

**OPTIMASI FERMENTASI BIJI SORGUM MERAH (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh  
*Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 UNTUK MENINGKATKAN DAYA CERNA PROTEIN  
DAN SIFAT FISIKOMIA TEPUNG SORGUM**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**



**SILVY NOVITA ANTRISNA PUTRI**  
186100100111011

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2021**

**OPTIMASI FERMENTASI SORGUM MERAH (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh  
*Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 UNTUK MENINGKATKAN DAYA CERNA PROTEIN  
DAN SIFAT FISIKOMIA TEPUNG SORGUM**

Oleh :

**SILVY NOVITA ANTRISNA PUTRI**

**186100100111011**

**MINAT TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelara Magister Teknologi Pertanian Starata Dua (S2)**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2021**



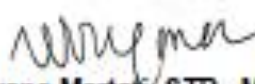
# TESIS


OPTIMASI FERMENTASI SORGUM MERAH (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 UNTUK MENINGKATKAN DAYA Cerna PROTEIN DAN SIFAT FISIKOKIMIA TEPUNG SORGUM

Oleh :  
SILVY NOVITA ANTRISNA PUTRI

Dipertahankan di depan penguji  
Pada Tanggal 16 Agustus 2021  
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Komisi Pembimbing,

  
Erryana Martani, STP., MP.Ph.D  
Ketua

  
Dr. Widya Dwi R.P., STP., MP  
Anggota

Anggota

Malang,

Kampus Teknologi Pertanian  
Universitas Brawijaya  
Lokan,  
  
Ir. Imam Santoso, MP  
NIP. 19681005 199512 1 001



## PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang,

Mahasiswa



Nama : **SILVY NOVITA ANTRISNA PUTRI**  
NIM : **186100100111011**  
PS : **TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**  
PPSFTPUB



## IDENTITAS TIM PENGUJI

### Judul Tesis :

OPTIMASI FERMENTASI BIJI SORGUM MERAH (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 untuk MENINGKATKAN DAYA CERNA PROTEIN DAN SIFAT FISIKOMIA TEPUNG SORGUM

Nama mahasiswa : Silvy Novita Antrisna Putri

NIM : 186100100111011

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

### Komisi pembimbing

Ketua : Erryana Martati, STP., MP.Ph.D

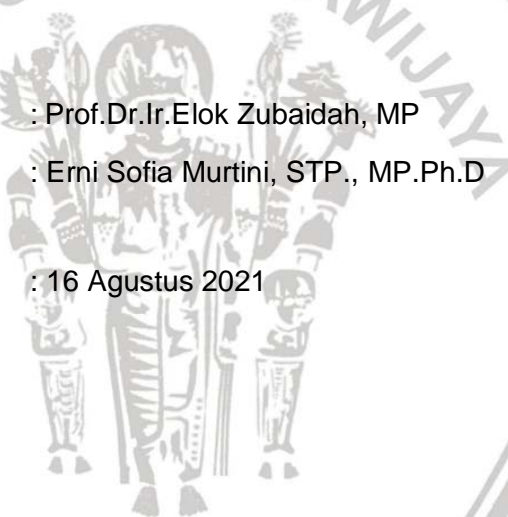
Anggota : Dr. Widya Dwi R.P, STP., MP

### Tim Dosen Penguji

Dosen Penguji 1 : Prof.Dr.Ir.Elok Zubaidah, MP

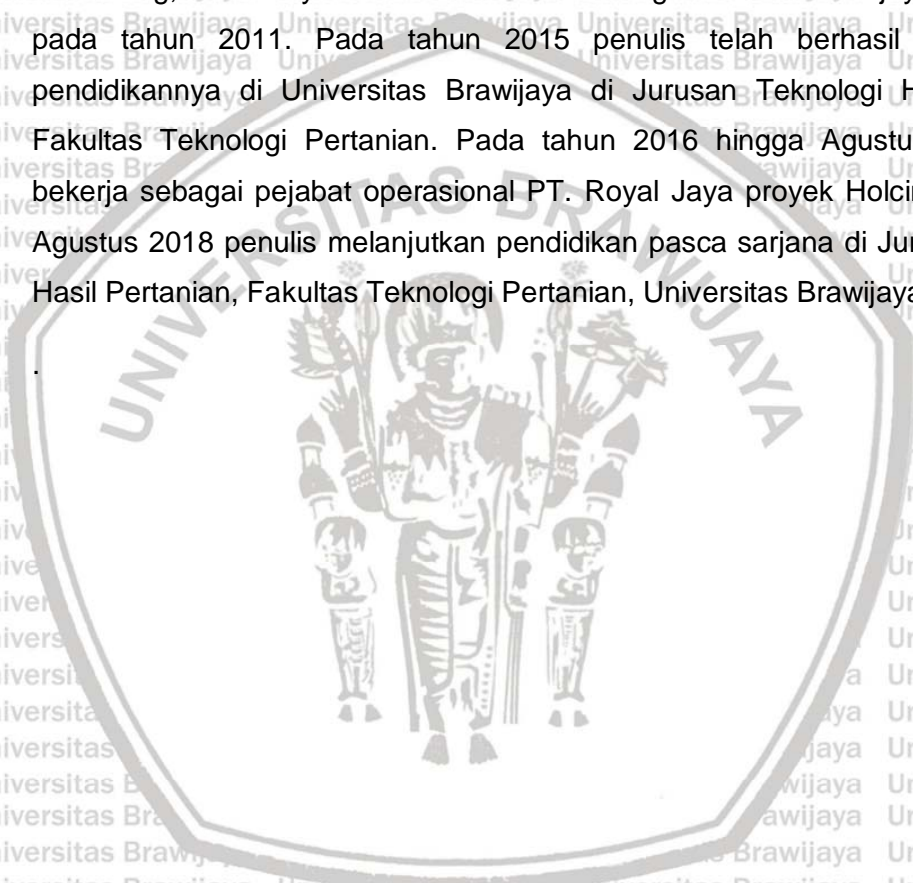
Dosen penguji 2 : Erni Sofia Murtini, STP., MP.Ph.D

Tanggal Ujian : 16 Agustus 2021



## RIWAYAT HIDUP

Penulis yang bernama Silvy Novita Antrisna Putri dilahirkan di Malang pada tanggal 15 November 1992, penulis anak pertama dari ayah yang bernama bapak Hadi Sutrisno dan ibu Sulastri. Penulis memiliki satu saudara perempuan bernama Nabilla antrisna putri dan satu saudara laki-laki bernama Rasendriya Nayottama Antrisna Putra. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN Jatimulyo III pada tahun 2005, kemudian melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama di SMPN 13 Malang, dan menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di Brawijaya Smart School pada tahun 2011. Pada tahun 2015 penulis telah berhasil menyelesaikan pendidikannya di Universitas Brawijaya di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. Pada tahun 2016 hingga Agustus 2018 penulis bekerja sebagai pejabat operasional PT. Royal Jaya proyek Holcim Tuban. Pada Agustus 2018 penulis melanjutkan pendidikan pasca sarjana di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.





**Silvy Novita Antrisna Putri. 186100100111011. OPTIMASI FERMENTASI BIJI SORGUM MERAH (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 untuk MENINGKATKAN DAYA CERNA PROTEIN DAN SIFAT FISIKOMIA TEPUNG SORGUM**

**Pembimbing : 1 Erryana Martati, STP., MP.Ph.D**

**2. Dr.Widya Dwi Rukmi Putri, STP.,MP**

---

**RINGKASAN**

*Sorghum bicolor* (L.) Moench merupakan sereal yang dapat tumbuh dengan baik di Indonesia akan tetapi konsumsinya masih rendah. Rendahnya daya cerna protein dan sifat fisikokimia pada sorgum merah menjadi penyebab menurunnya minat masyarakat dalam mengkonsumsi sorgum merah. Kandungan senyawa antigizi yaitu tanin dan fitat mampu berinteraksi dengan protein sehingga daya cerna protein menjadi rendah. Asam tanin menjadi penyebab rasa pahit dan berpasir pada sorgum merah ketika dikonsumsi. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk meningkatkan sifat fisikokimia dan daya cerna protein sorgum, salah satunya dengan fermentasi sorgum merah. Tujuan penelitian ini adalah optimasi lama waktu fermentasi dan konsentrasi inokulum *L. plantarum* untuk meningkatkan daya cerna protein dan sifat fisikokimia tepung sorgum merah dan mengetahui karakterisasi fisikokimia tepung sorgum merah hasil optimasi.

Penelitian ini menggunakan *Respon Surface Method* (RSM) *Central Composite Design* (CCD) dengan variabel bebas konsentrasi inokulum (3,6,9%) dan lama fermentasi (36,48 dan 60 jam) dilakukan dua kali pengulangan. Respon yang diamati pada proses optimasi adalah tanin, fitat dan daya cerna protein. Hasil optimasi akan dibandingkan dengan bahan baku dengan tujuan mengetahui pengaruh fermentasi terhadap respon.

Pada karakterisasi sifat fisikokimia hasil optimasi respon yang diamati adalah kadar air, protein, daya kembang, kelarutan, daya serap air dan senyawa bioaktif. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum fermentasi sorgum merah adalah konsentrasi inokulum 7,8% dan lama fermentasi 55,6 jam dengan kadar tanin 56,33 mg/100g bk, fitat 68,21 mg/100g bk dan daya cerna protein 51,52%. Hasil analisa tepung sorgum merah fermentasi apabila dibandingkan dengan bahan baku maka akan terjadi penurunan tanin sebesar 64%, fitat 60% sedangkan daya cerna protein mengalami peningkatan sebesar 39,71%.

Karakterisasi sifat fisikokimia diperoleh dari sorgum merah hasil optimasi. tujuan dari karakterisasi ini untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap peningkatan sifat fisikokimia dari sorgum merah. Sifat fisik tepung sorgum merah hasil optimasi adalah, Daya serap air meningkat dari 11,92% menjadi 12,9%, Kelarutan meningkat dari 33,45% menjadi 52,85%. Daya kembang meningkat dari 7,28 g/g menjadi 8,82 g/g. Fermentasi berpengaruh nyata ( $p \leq 0,05$ ) terhadap sifat fisik tepung sorgum merah, sedangkan *pasting properties* tepung sorgum merah yang dianalisa menggunakan *Rapid Visco Analyzer* (RVA) dengan hasil sebagai berikut *peak 1* 2021, *trough* 1567, *breakdown* 454, *final visc* 2169, *seatback* 602, *peak time* 9,80, *pasting time* 85,25.

Analisa pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif tidak dilakukan penelitian secara langsung di laboratorium melainkan menggunakan metode literatur review. Fermentasi mampu memutus ikatan senyawa antigizi dan protein pada sorgum merah, meningkatkan senyawa volatil yang berperan sebagai antioksidan, dan mampu memecah asam fenolik dan flavonoid menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Sorgum merah mengandung senyawa bioaktif diantaranya asam tanin 0,997%, asam fitat 40 mg/ 100g, saponin 1,63%, asam fenolik 0,35 mg/kg dan flavonoid 39,21 µg/ml QE.

Kata kunci : sorgum, *L.plantarum*, tanin, fitat, daya cerna protein, senyawa bioaktif



**Silvy Novita Antrisa Putri. 186100100111011. OPTIMIZATION OF FERMENTATION OF RED SORGHUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) by *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 to INCREASE PROTEIN DIVERSITY AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SORGHUM FLOUR**

**Advisors : 1 Erryana Martati, STP., MP.Ph.D**

**2. Dr.Widya Dwi Rukmi Putri, STP.,MP**

---

**SUMMARY**

*Sorghum bicolor* (L.) Moench is a cereal which can grow well in Indonesia even though the consumption level is still low. The presence of tannin and phytate antioxidant compounds causes the low digestibility of red sorghum protein. Besides, sorghum has a bitter and gritty taste which causes low public-acceptability. So, it is necessary to do research to improve the physicochemical properties and digestibility of sorghum protein, one of which is red sorghum fermentation. The purpose of this study was to optimize the fermentation time and inoculum concentration of *L. plantarum* to improve protein digestibility and physicochemical properties of red sorghum flour and to determine the physicochemical characterization of the optimized red sorghum flour.

This research used Response Surface Method (RSM) Central Composite Design (CCD) with independent variables of inoculum (36,9%) and fermentation time (36,48 and 60 hours) were repeated twice.

The responses observed in the optimization process were tannins, phytates, and protein digestibility while on the characterization of physicochemical properties, the responses observed were water content, crude protein, swellability, solubility, water absorption, and bioactive compounds. The purpose of optimization using RSM is to obtain the optimum point of the inoculum concentration factor and fermentation time. The results showed that the optimum condition of red sorghum fermentation was 7,8% inoculum concentration and the fermentation time was 55,6 hour with the tannin level of 56,33 mg/100g bk, phytate 68,21 mg/100g bk and protein digestibility of 51,52%. The result of the analysis of fermented red sorghum flour compared to the raw materials was that there was a decrease in tannin of 64% , phytate of 60%, while protein digestibility increased by 39.71%.

Characterization of physicochemical properties is obtained from the result of red sorghum optimization. The purpose of this characterization was to determine the effect of fermentation on improving the physicochemical properties of red sorghum. The physical properties of the optimized red sorghum flour are: water absorption increased from 11.92% to 12.9%; solubility increased from 33.45% to 52.85%, and the swelling power increased from 7.28 g/g to 8.82 g/g. Fermentation has a significant effect ( $p \leq 0.05$ ) on the physical properties of red sorghum flour, while the result of pasting properties of red sorghum flour which were analyzed using Rapid Visco Analyzer (RVA) is *peak 1* 2021, *trough* 1567, *breakdown* 454, *final visc* 2169, *seatback* 602, *peak time* 9,80, *pasting time* 85,25.

The analysis of the effect of fermentation on bioactive compounds research is not carried out directly in the laboratory but uses the literature review method. The results of the literature review show that red sorghum contains bioactive compounds including tannins 0,997%, phytic acid 40 mg/100g, saponin 1,63%, phenolic acids 0,35 mg/kg, and flavonoid 39,21 µg/ml QE. Fermentation is able to break down phenolic acids and flavonoids into simpler forms. Increase volatile compounds as antioxidant and break the bonds between tannins and proteins so that they become compounds that are beneficial to body health.

**Keywords :** sorghum, *L.plantarum*, tannins, phytate, protein digestibility, bioactive compound



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah Yang Maha Esa dengan segala limpahan rahmat, anugerah, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul **“Optimasi fermentasi sorgum merah (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) oleh *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 untuk meningkatkan daya cerna protein dan sifat fisik tepung sorgum”**

Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Tuhan YME yang telah memberikan rahmat, ridho dan segala nikmat kepada penulis
2. Ibu dan bapak tercinta yang selalu memberikan dukungan moril serta material
3. Suami dan Putri saya Shabira yang selalu memberikan dorongan untuk menjadi diri yang lebih baik dan motivasi serta keluarga besar yang mencurahkan kasih sayang dan semangat yang tiada henti
4. Erryana Martati, STP., MP.Ph.D dan Dr. Widya Dwi R.P,STP.,MP selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, bantuan, waktu dan perhatiannya kepada penulis
5. Teman-teman tercinta THP 2018 yang selalu menemani dalam suka dan duka, memberikan semangat, do'a perhatian serta kasih sayangnya
6. Segenap karyawan dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya yang telah memberikan dukungan serta bantuan demi kelancaran penyusunan proposal skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang membangun penulis harapkan untuk kesempurnaan proposal ini. Akhir kata, penulis berharap semoga laporan akhir ini bermanfaat.

Malang, 16 Agustus 2021

Silvy Novita A.P



## DAFTAR ISI

<b>Teks</b>	<b>Hal</b>
<b>RINGKASAN</b>	<b>V</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>VI</b>
<b>KATA PENGANTAR</b>	<b>VII</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>VIII</b>
<b>DAFTAR TABEL</b>	<b>XI</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	<b>XII</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	<b>XIII</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat penelitian	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	<b>4</b>
2.1 Sorgum bicolor L (Moench)	4
2.2 Struktur biji sorgum dan kernel sorgum	4
2.2.1 Biji sorgum	4
2.2.2 Struktur biji sorgum	4
2.3 Komposisi gizi sorgum	6
2.3.1 Karbohidrat	6
2.3.2 Protein	7
2.4 Senyawa anti gizi	7
2.4.1 Tanin terkondensasi	7
2.4.2 Asam fitat	10
2.5 Rekayasa Pengolahan	12
2.5.1 Penyosohan	12
2.5.2 Fermentasi	13
2.5.2.1 Perubahan sifat fisiko kimia selama proses fermentasi	15
2.6 Bakteri asam laktat	15
2.7 Tanase	15
2.8 Fitase	16
2.9 Karakteristik sorgum fermentasi	18
2.9.1 Daya kembang	18
2.9.2 Daya serap air	18
2.9.3 <i>Pasting properties</i> tepung sorgum	18
2.10 Kajian Pustaka: pengaruh fermentasi sorgum terhadap komponen senyawa bioaktif pada sorgum	19
2.10.1 Pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif	19
2.10.2 Jenis senyawa biokatif pada sorgum	20
2.10.3 Asam fenolik	20
2.10.4 Asam tanin	22
2.10.5 Asam fitat	22
2.10.6 Saponin	22
2.11 Antioksidan	23
<b>BAB III KERANGKA PENELITIAN</b>	<b>24</b>
3.1 Kerangka pikir penelitian	24
3.2 Skema kerangka penelitian	27
3.2.1 Skema kerangka pikir	27
3.2.2 Skema kerangka operasional	28
3.2.3 Skema kerangka operasional	29
3.3 Hipotesa	30
<b>BAB IV METODELOGI PENELITIAN</b>	<b>31</b>
4.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	31
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	31
4.2.1 Alat	31



4.2.2	Bahan penelitian.....	31
4.3	Metode penelitian.....	32
4.3.1	Penelitian pendahuluan.....	32
4.3.1.1	TPC.....	32
4.3.1.2	pH dan Total asam.....	33
4.3.2	Penelitian utama.....	35
4.3.2.1	Optimasi fermentasi sorgum menggunakan <i>L.plantarum</i> .....	36
4.3.2.2	Karakterisasi tepung sorgum hasil optimasi.....	36
4.3.2.3	Kajian pustaka : Pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif pada sorgum merah.....	38
4.4	Pelaksanaan penelitian.....	38
4.4.1	Optimasi fermentasi biji sorgum merah utuh.....	39
4.4.2	Kajian pustaka: pengaruh fermentasi terhadap kandungan senyawa bioaktif pada sorgum merah.....	39
4.5	Metode analisa.....	39
4.5.1	Penelitian pendahuluan.....	39
4.5.2	Analisa pada penelitian utama.....	40
4.5.3	Karakterisasi tepung sorgum dari biji sorgum bahan baku dan hasil fermentasi.....	40
4.6	Analisa statistik.....	40
4.7	Diagram penelitian.....	41
4.7.1	Penelitian pendahuluan.....	41
4.7.2	Diagram alir penelitian utama.....	42
4.7.2.1	Diagram alir optimasi fermentasi.....	42
4.7.2.2	Verifikasi tepung sorgum hasil optimasi.....	43
4.7.2.3	Karakterisasi dan perbandingan sorgum bahan baku dan hasil optimasi fermentasi.....	43
4.7.3	Diagram alir literature review.....	44
<b>BAB V</b>	<b>HASIL dan PEMBAHASAN</b> .....	43
5.1	Optimasi fermentasi.....	49
5.2.1	Pemodelan kondisi fermentasi untuk penurunan tanin biji sorgum.....	50
5.2.2	Pemodelan kondisi fermentasi untuk penurunan fitat biji sorgum.....	53
5.2.3	Pemodelan kondisi fermentasi untuk peningkatan daya cerna protein.....	57
5.3	Penentuan Titik Optimum Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi.....	60
5.4	Verifikasi Hasil Optimum Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi Terhadap Respon Daya Cerna Protein secara In Vitro, Tanin dan Fitat.....	61
5.5	Karakteristik tepung sorgum fermentasi.....	62
5.5.1	Kadar air.....	64
5.5.2	Protein.....	64
5.5.3	Tanin terkondensasi.....	64
5.5.4	Asam fitat.....	65
5.5.5	Daya cerna protein.....	65
5.5.6	Daya serap air.....	66
5.5.7	Kelarutan.....	66
5.5.8	Daya kembang.....	67
5.5.9	Hasil amilografi tepung sorgum tanpa perlakuan dan tepung sorgum optimasi.....	68
5.6	Kajian Pustaka: pengaruh fermentasi sorgum secara tradisional terhadap komponen senyawa bioaktif.....	72

5.6.1.	Perubahan senyawa bioaktif sorgum selama fermentasi .....	74
5.6.1.1	Asam tanin .....	75
5.6.1.2	Asam fitat .....	76
5.6.1.3	Saponin .....	76
5.6.1.4	Asam fenolik .....	77
5.6.1.5	flavanoid .....	78
5.6.3	Perubahan senyawa bioaktif sorgum selama fermentasi .....	77
<b>BAB VI</b>	<b>Penutup .....</b>	<b>80</b>
<b>6.1</b>	<b>Kesimpulan .....</b>	<b>81</b>
<b>6.2</b>	<b>Saran .....</b>	<b>81</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>83</b>





## DAFTAR TABEL

Teks	Hal
<b>Tabel 2.1</b> Perbandingan analisa komposisi gizi pada biji sorgum merah dan putih.....	6
<b>Tabel 2.2</b> Penyosohan biji sorgum.....	12
<b>Tabel 2.3</b> Mikroorganisme penghasil enzim tanase.....	15
<b>Tabel 2.4</b> Mikoorganisme penghasil fitase.....	17
<b>Tabel 2.5</b> Kandungan flavanoid pada sorgum merah dan putih.....	20
<b>Tabel 2.6</b> Kandungan asam fenolik pada sorgum merah dan putih.....	21
<b>Tabel 4.1</b> Perhitungan jumlah sel bakteri menggunakan metode TPC.....	32
<b>Tabel 4.2</b> Hasil analisa pH dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) .....	33
<b>Tabel 4.3</b> Hasil analisa total asam (TA) dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) .....	33
<b>Tabel 4.4</b> Hasil analisa asam tanin terkondensasi (mg/100g) dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) .....	34
<b>Tabel 4.5</b> Faktor dan respon yang digunakan dalam desain RSM.....	35
<b>Tabel 4.6</b> Rancangan percobaan dan optimasi fermentasi sorgum.....	36
<b>Tabel 4.7</b> Jurnal senyawa bioaktif pada biji sorgum fermentasi dan non fermentasi.....	45
<b>Tabel 5.1</b> Rancangan percobaan CCD variabel kondisi fermentasi biji sorgum untuk optimasi kadar tanin, fitat dan daya cerna protein biji sorgum.....	48
<b>Tabel 5.2</b> Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadratik dan analisis keragaman hasil percobaan kadar tanin biji sorgum hasil fermentasi.....	49
<b>Tabel 5.3</b> Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadratik dan analisis keragaman hasil percobaan kadar fitat biji sorgum hasil fermentasi.....	53
<b>Tabel 5.4</b> Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadratik dan analisis keragaman hasil percobaan daya cerna protein sorgum hasil fermentasi.....	57
<b>Tabel 5.5</b> Solusi Titik Optimum Konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap Daya Cerna Protein, Fitat dan Tanin.....	61
<b>Tabel 5.6</b> Kondisi optimum, validasi dari nilai prediksi dan nilai hasil eksperimen dengan kondisi yang sama.....	62
<b>Tabel 5.7</b> Karakteristik tepung sorgum fermentasi.....	63
<b>Tabel 5.8</b> <i>Pasting properties</i> pada tepung sorgum yang dibuat dengan metode tanpa perlakuan dan hasil optimasi fermentasi sorgum.....	68
<b>Tabel 5.9</b> Kondisi fermentasi dan asal Negara sorgum fermentasi.....	73
<b>Tabel 5.10</b> Senyawa biokatif pada sorgum dan sorgum fermentasi.....	75







## Daftar lampiran

Teks		Hal
Lampiran 1	Metode analisa.....	96
Lampiran 2	Pelaksanaan Penelitian Pendahuluan .....	100
Lampiran 3	Analisa TPC,pH, Total asam, dan Tanin .....	102
Lampiran 4	Perhitungan RAK pada penelitian pendahuluan .....	106
Lampiran 5	Perhitungan sel bakteri pada penelitian utama .....	106
Lampiran 6	Rasio data respon Asam Tanin, Asam Fitat, dan Daya cerna protein.....	107
Lampiran 7	Olah data RSM.....	109
Lampiran 8	Hasil verifikasi.....	116
Lampiran 9	Hasil uji paired test respon tanin, fitat dan daya cerna protein.....	116
Lampiran 10	Hasil karakterisasi sorgum dan sorgum hasil optimasi.....	117
Lampiran 11	Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon kadar air, protein, daya kembang, daya serap dan kelarutan.....	118



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) merupakan sereal yang berada pada urutan ke lima di dunia setelah gandum, padi, jagung dan barley (Abah *et al.*, 2020). Kelebihan dari tanaman ini adalah dapat tumbuh dengan baik pada iklim subtropis dan tropis seperti di Indonesia (Amrinola *et al.*, 2015). Produksi sorgum di Indonesia berdasarkan penelitian dari (Sirappa, 2003) sejumlah 6,56 t/ha. Sorgum merupakan sumber energi, protein, vitamin dan mineral bagi masyarakat Indonesia (Pranoto *et al.*, 2013). Sorgum mengandung protein sebesar 9,95 %, Sedangkan, gandum 11,6 %, jagung 9,2 %, dan beras 7,9 % (Suarni, 2015). Pada saat ini minat masyarakat dalam mengkonsumsi hasil olahan dari biji sorgum masih rendah, hal ini disebabkan karena sorgum memiliki rasa pahit dan berpasir saat dikonsumsi serta daya cerna protein dan pati yang rendah. (Pranoto *et al.*, 2013) menyatakan, bahwa penyebab daya cerna protein sorgum rendah dikarenakan faktor eksogenus dan endogenus. Faktor eksogenus diantaranya polifenol fitat, struktur biji sorgum, struktur pati dan non-pati, sedangkan faktor endogenus diantaranya, hidrofobik kafirin, ikatan disulfida dan non disulfida. (Schons *et al.*, 2012) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa antigizi yang menjadi penyebab rasa pahit pada biji sorgum dan mengakibatkan daya cerna pati dan protein sorgum rendah. Tanin mampu membentuk ikatan kompleks antara tanin dengan protein dan karbohidrat, sehingga tidak dapat dihidrolisa oleh enzim didalam tubuh (Jaiswal *et al.*, 2018). Fitat merupakan senyawa antigizi yang ditemukan pada biji sorgum yang memiliki 6 fosfat pada setiap rantai sampingnya. Fitat memiliki kemampuan untuk mengikat mineral pada bahan makanan yang masuk kedalam tubuh seperti kalsium, zat besi dan magnesium selain itu fitat menjadi inhibitor pada enzim protease sehingga protein tidak terserap oleh tubuh (Nissar *et al.*, 2017).

Rekayasa pengolahan sorgum dilakukan untuk menurunkan konsentrasi senyawa antigizi pada biji sorgum, diantaranya dengan metode enzimatis (Schons *et al.*, 2012), perkecambahan (Ojha *et al.*, 2018), kimiawi (Singh *et al.*, 2010), fermentasi (Osman, 2004), fisik dengan penyosohan (Murtini *et al.*, 2018) dan penepungan (Budijanto dan Yuliyanti, 2012). Berdasarkan penelitian (Amrinola *et al.*, 2015), penyosohan sorgum selama 5 menit mampu menurunkan konsentrasi tanin dari 4% menjadi 2%.

Fermentasi sorgum menggunakan *Lactobacillus plantarum* merupakan metode yang mampu meningkatkan kualitas gizi tepung sorgum putih dengan mekanisme



menghidrolisa tanin, fitat, merubah struktur pati, menyeimbangkan komposisi asam amino, meningkatkan kandungan vitamin, dan meningkatkan daya cerna protein serta pati sorgum (Pranoto *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian (Delgadillo *et al.*, 2005) bahwa *L.plantarum* memiliki aktivitas *proteolitik* dan *amilolitik*, sehingga fermentasi tepung sorgum menggunakan *L.plantarum* mampu merubah sifat fisikokimia tepung sorgum diantaranya gula reduksi, *swelling power*, viskositas, derajat putih dan kadar air menjadi, 1,33 (db%), 10,75 (g/g), 5799(cP), 50,80 (%), dan 9,97 (wb%). Selain itu berdasarkan penelitian dari (Osawa *et al.*, 2000), *L.plantarum* mampu memproduksi enzim tanase yang berfungsi untuk menghidrolisis tanin menjadi asam galat dan glukosa, sehingga fermentasi sorgum merah menggunakan *L.plantarum* mampu menurunkan konsentrasi tanin.

Fermentasi menggunakan kultur murni dilakukan dalam penelitian (Ojha *et al.*, 2018) menyatakan bahwa fermentasi pada tepung sorgum putih menggunakan *L.plantarum* mampu menurunkan konsentrasi tanin dari 3,1 menjadi 0,1 mg/g, sedangkan, berdasarkan penelitian dari onyango fermentasi tepung sorgum merah secara spontan mampu menurunkan konsentrasi asam fitat sebesar 20-21%. Fermentasi secara spontan berdasarkan penelitian (Abdelhaleem *et al.*, 2008) bahwa konsentrasi tanin mengalami penurunan dari 0,55% menjadi 0,18% sedangkan asam fitat dari 210 menjadi 73,12 mg/100g. Fermentasi mampu mendegradasi ikatan disulfida pada protein tepung sorgum sehingga daya cerna protein meningkat sebesar 5%. Sedangkan untuk daya cerna pati (Pranoto *et al.*, 2013) menyatakan bahwa selama proses fermentasi *L.plantarum* pada fermentasi jam ke 28 mampu meningkatkan daya cerna pati dari 41,81% menjadi 80,31%.

Lama fermentasi dan konsentrasi inokulum merupakan faktor yang perlu dioptimasi untuk memperoleh daya cerna protein dan difat fisik tepung sorgum yang optimal. Berdasarkan penelitian dari (Osman, 2004) dengan menggunakan tiga jenis sorgum yaitu, Hamra, Sahla, dan Baidha dan lama fermentasi 24 jam mampu menurunkan konsentrasi tanin sebesar, 31%,15%,dan 35%. Sedangkan Daya cerna protein pada tepung sorgum putih meningkat dari 46,89% menjadi 92,08% dengan konsentrasi *L.plantarum*  $10^8$  cfu /ml yang difermentasi selama 36 jam (Pranoto *et al.*,2013)

Penelitian terdahulu tentang sifat fisikokimia dan daya cerna protein pada tepung sorgum putih hasil fermentasi dengan *L.plantarum* NBRC 15891 telah dilaporkan oleh (Pranoto *et al.*, 2013) dan penelitian tentang sifat fisik pada tepung sorgum merah hasil fermentasi dengan *L.plantarum* FNCC 027 telah dilakukan oleh (Kurniadi *et al.*, 2019) Namun, penelitian tentang optimasi fermentasi biji sorgum merah dengan *L. plantarum* belum pernah dilakukan. Sehingga perlu dilakukan penelitian optimasi fermentasi biji



sorgum merah dengan *L. plantarum* menggunakan rancangan RSM (*Respon Surface Methodology*) *Central Composite Design* (CCD) dengan dua faktor yaitu konsentrasi inokulum dan lama fermentasi dan tiga respon yaitu konsentrasi tanin, fitat dan daya cerna protein.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas dapat diajukan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Berapa konsentrasi inokulum dan lama waktu fermentasi yang optimal untuk menurunkan konsentrasi tanin dan fitat sorgum merah dan meningkatkan daya cerna protein menggunakan rancangan RSM?
2. Bagaimana karakterisasi fisikokimia tepung sorgum merah hasil optimasi?
3. Bagaimana pengaruh fermentasi terhadap kandungan senyawa bioaktif sorgum merah dalam bentuk kajian pustaka?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan lama waktu fermentasi dan konsentrasi inokulum yang optimal untuk menurunkan konsentrasi tanin dan fitat sorgum merah dan meningkatkan daya cerna protein menggunakan rancangan RSM
2. Melakukan analisa dan karakterisasi sifat fisik tepung sorgum merah hasil optimasi
3. Melakukan studi pustaka pengaruh fermentasi sorgum terhadap senyawa bioaktif pada sorgum merah

## 1.4 Manfaat penelitian

1. Memberikan informasi pengolahan sorgum khususnya fermentasi untuk menurunkan senyawa tanin, fitat dan meningkatkan daya cerna protein sehingga bisa meningkatkan kualitas gizi sorgum merah
2. Kajian pustaka pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif bermanfaat untuk mengetahui perubahan senyawa bioaktif akibat dari fermentasi dan manfaatnya bagi kesehatan tubuh.
3. Meningkatkan minat konsumen terhadap hasil olahan sorgum merah seperti sorgum beras merah



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Sorgum bicolor* L (Moench)

*Sorgum* merupakan salah satu jenis serelia yang menjadi sumber protein dan karbohidrat yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia terutama pada daerah NTB. *Sorgum* memiliki ketahanan terhadap kondisi yang kering sehingga dapat ditanam pada daerah tropis maupun subtropis. *Sorgum* kaya akan mineral namun nilai *bioavailabilitas* sangat rendah yaitu pada kisaran 1% untuk besi dan 90% untuk mineral K (Kalium) dan Na (natrium). *Bioavailabilitas* dalam produk pangan dipengaruhi oleh banyak hal diantaranya adalah kandungan asam amino esensial yang rendah pada *sorgum* misalnya lisin dan threonine dan kandungan antigizi pada *sorgum* seperti asam fitat, dan tanin. Komponen antigizi tersebut dapat menjadi penghambat metabolisme protein, karbohidrat dan mineral (Tomás-Barberán dan Espín, 2001). *Sorgum* merah kaya akan senyawa polifenol diantaranya, asam fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi dan deoksiantosianidin. Kandungan fenolik *sorgum* dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya warna tanaman, ketebalan perikarp, dan kondisi pertumbuhan (Svensson et al. 2010).

#### 2.2 Struktur biji dan kernel *sorgum*

##### 2.2.1 Biji *Sorgum*

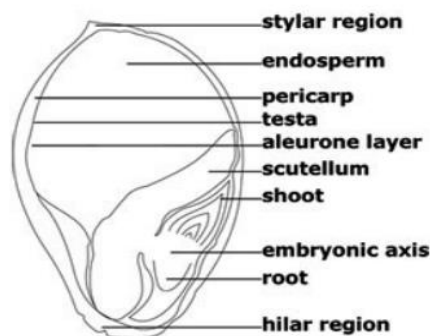
Kualitas biji *sorgum* ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya tipe atau jenis dari *sorgum*, kondisi fisik dari *sorgum* (kelembapan dan ukuran inti biji *sorgum*), sanitasi (jamur dan kandungan mikotoksin) dan faktor instrinsik (kandungan lemak, protein, kekerasan, dan pati). Kualitas biji *sorgum* ditentukan oleh faktor genetik, masa pertumbuhan, waktu panen, metode pemanenan, sistem pengeringan, penyimpanan dan transportasi (Balitkabi, 2015)

##### 2.2.2 Struktur Biji *Sorgum*

Biji *sorgum* pada umumnya berbentuk bulat dengan ukuran dan warna yang berbeda-beda tergantung varietas *sorgum*, biji *sorgum* memiliki ukuran panjang 4 mm, lebar 2 mm dan tinggi 2,5 mm. Penampakan biji *sorgum* ditunjukkan pada **Gambar 2.1**. Warna biji *sorgum* terdiri dari merah, ungu atau coklat. Perikarp merupakan bagian terluar dari biji *sorgum* yang terdiri dari tiga bagian yaitu epikarp, mesokarp dan endokarp. Epikarp merupakan bagian terluar yang mengandung pigment warna pada biji *sorgum*. Mesokarp bagian kedua pada biji *sorgum* merupakan yang paling tebal, berbentuk



polygonal dan mengandung sedikit pati. Mesokarp memiliki karakteristik yang mudah dihancurkan yang bermanfaat pada proses penggilingan, namun pada bagian mesokarp banyak ditemukan kandungan fenolik yang dapat hilang pada proses penggilingan. Endokarp merupakan bagian terdalam pada susunan perikarp, endokarp tersusun dari sel yang melintang dan sel tabung pada bagian endokarp inilah terdapat proses penyerapan air hingga 4-5% dari berat biji sorgum (Kebakile, 2008)



**Gambar 2.1 Struktur Biji Sorgum (Abah et al., 2020)**

Endosperma terdiri atas lapisan endosperma luar (*peripheral endosperm*), tengah (*corneus endosperm*) dan dalam (*floury endosperm*). Komponen utama biji sorgum adalah pati yang tersimpan dalam bentuk granula pada bagian endosperma dengan diameter 5-25  $\mu\text{m}$ . Endosperma memiliki peran penting dalam penyediaan nutrisi bagi tanaman pada awal pertumbuhan, sebelum tanaman mampu menyerap hara dari tanah (Andriani et al., 2006)

Berbagai cara dilakukan untuk meningkatkan minat masyarakat terhadap produk biji sorgum sebagai salah satu pangan alternatif yang bergizi tinggi. Pengembangan hasil olahan biji sorgum dilakukan secara kuantitas maupun kualitas untuk memperkenalkan produk olahan sorgum di masyarakat. Produk olahan sorgum yang semakin variatif akan memberikan dampak yang positif kepada petani sorgum dikarenakan semakin tingginya permintaan akan biji sorgum. (Balitkabi, 2015)

Teknologi pengolahan pangan diperlukan untuk meningkatkan kualitas rasa dari produk olahan biji sorgum. Sorgum mengandung senyawa antigizi yaitu Tanin yang mengakibatkan rasa pahit ketika dikonsumsi, sehingga diperlukan *pre-treatment* untuk mengurangi rasa pahit tersebut. Kemasan pada produk hasil olahan biji sorgum dapat meningkatkan minat masyarakat untuk mengonsumsi biji sorgum sehingga nilai jualnya meningkat. Biji sorgum dapat diolah langsung menjadi nasi sorgum atau diolah menjadi bahan setengah jadi seperti tepung sorgum. Tepung sorgum dapat diolah menjadi



berbagai macam produk yaitu aneka makanan kering (kukis, biskuit, dll.) dan basah (roti, mie, dan lain-lain) (Balitkabi, 2015)

## 2.3 Komposisi gizi sorgum

Sorgum merupakan salah satu sereal yang menjadi sumber makronutrient dan mikronutrien. Pada biji sorgum mengandung karbohidrat 70%, lemak 3,5% dan protein sebesar 11%. Sorgum dapat dikategorikan menjadi sereal yang kaya akan serat dikarenakan mengandung serat lebih tinggi 20% dibandingkan sereal lainnya seperti beras dan wheat, selain itu sorgum kaya akan kandungan magnesium, besi, mangan dan fosfor yang baik untuk kesehatan tubuh. kandungan senyawa fenolik pada biji sorgum diantaranya tanin, asam fenolik, antosianin, fitosterol, dan polikosanol (Debabandya *et al.*, 2017)

**Tabel 2.1** Perbandingan analisa komposisi gizi pada biji sorgum merah dan putih

Jenis sorgum	Kadar air (%)	Kadar abu (%)	Serat kasar (%)	Lemak kasar (%)	Protein kasar (%)	Karbohidrat (%)	Energi (kcal/g)
Merah	10,23	2,32	2,39	6,72	6,06	72,28	388,15
Putih	11,9	2,01	1,45	9,26	4,82	70,55	384,86

Sumber : Mohammed *et al.*, (2019)

Pada **Tabel 2.1** dapat diketahui bahwa, sorgum merah mengandung protein yang lebih tinggi yaitu 6,06% dibandingkan dengan sorgum putih. Sorgum merah mengandung karbohidrat sebesar 72,28% sedangkan sorgum putih sebesar 70,55%. Hal tersebut membuktikan bahwa sorgum merah mengandung sumber energi yang lebih besar yaitu 388,15 kcal/g dibandingkan dengan sorgum putih.

### 2.3.1 Karbohidrat

Pati merupakan salah satu bentuk simpanan karbohidrat di dalam sorgum. Pati sorgum mengandung amilosa dan amilopektin sebesar 23-30% dan 70-80% (Debabandya *et al.*, 2017). Amilosa merupakan polisakarida berantai lurus berbentuk heliks dengan ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,4 sedangkan amilopektin merupakan titik percabangan dari amilosa dengan ikatan  $\alpha$ -1,6. Karakteristik sifat fisik dan kimia dari pati akan berpengaruh terhadap fungsi dari pati pada bahan pangan itu sendiri contohnya



adalah Amilosa memiliki peran penting dalam penyerapan air pada proses *swelling* dan gelatinisasi (Cornejo-Ramírez *et al.*, 2018)

### 2.3.2 Protein

Protein merupakan komponen gizi terbesar kedua di dalam sorgum dengan kandungan protein (10, 4 %). Kadar protein sorgum cukup besar variasinya, selain varietas kemungkinan karena komoditas ini ditanam pada kondisi agroklimat yang berbeda. Fluktuasi kadar protein sorgum secara umum juga berpengaruh terhadap komposisi asam amino dari protein sorgum. Mutu protein merupakan fungsi dari komposisi asam amino esensialnya. Asam amino alanine merupakan jenis asam amino paling tinggi pada biji sorgum yaitu sebesar 0,82%. Valin merupakan kandungan asam amino terbesar kedua pada biji sorgum yaitu sebesar 0,53% Komposisi asam amino pada biji sorgum dapat berpengaruh terhadap karakteristik biji sorgum (Suarni dan Firmansyah, 2016)

## 2.4 Senyawa antigizi

### 2.4.1 Tanin terkondensasi

Tanin merupakan salah satu macam dari komponen fenolik yang memiliki struktur kompleks pada tanaman. Tanin dapat dibedakan dalam tiga grup berdasarkan strukturnya yaitu tanin terhidrolisa, tanin terkondensasi dan tanin kompleks dengan berat lebih dari 5000 Da. Tanin terhidrolisa terbentuk dari asam fenolik dan turunannya dengan ikatan glikosida atau katan ester dengan glukosa atau polyols (Chang *et al.*, 2019)

Tanin pada tanaman memiliki fungsi *biological* dan *biochemical*, tanin pada biji sorgum dipengaruhi oleh pigmen pada lapisan testa. Tanin terkondensasi mampu membentuk ikatan dengan protein. Tanin atau yang bisa disebut dengan *procyanidins* merupakan komponen fenol terbesar yang ada pada tanaman sorgum. Tanin mampu menurunkan kandungan protein dan menurunkan daya cerna protein serta menghambat kerja enzim amilase. Pada sorgum coklat tanin mampu menurunkan daya cerna pati. Daya cerna pati dipengaruhi oleh proposi dari amilase, interaksi antara tanin dengan protein akan menghambat system kerja enzim yang berfungsi untuk menghidrolisa pati sehingga daya cernanya menurun (Tapiwa, 2019)

Tanin dapat berinteraksi dengan protein dalam berbagai ikatan yaitu, ikatan hidrogen, ikatan ion dan ikatan kovalen. Tanin terhidrolisa dan terkondensasi berikatan dengan protein dan membentuk ikatan hydrogen antara kelompok fenol dari tanin dan kelompok karboksil dari protein (Hidayah, 2016). Menurut (Liang, 2006) ikatan kovalen

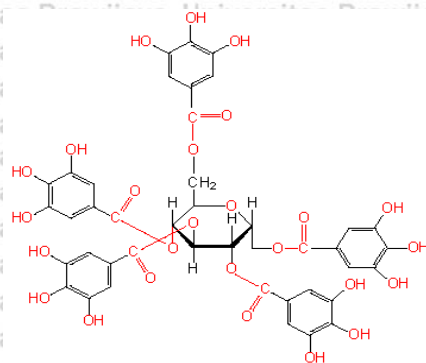


terbentuk apabila tanin telah mengalami oksidasi dan membentuk polimer quinon yang selanjutnya melalui reaksi adisi eliminasi atom N dari gugus asam amino protein menggantikan atom oksigen dari senyawa poliquinon. Ikatan hidrogen yang terbentuk merupakan ikatan antara atom H yang polar dengan atom O baik dari protein (dari asam amino yang memiliki rantai samping non-polar) atau tanin (cincin benzena), adapun yang mendominasi kekuatan ikatan ini adalah ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Jaiswal *et al.*, 2018). Tanin terkondensasi mampu membentuk kompleks yang stabil dengan protein, metal, dan makromolekul lainnya termasuk polisakarida. Komplek yang terbentuk antara tanin dengan protein menghasilkan protein terkoagulasi atau terpresipitasi sebanyak 12 kali dari berat protein itu sendiri. Tanin dan karbohidrat mampu berinteraksi namun memiliki afinitas yang rendah dibandingkan dengan protein. Interaksi antara protein dan mineral dapat menurunkan availabilitas dari mineral itu sendiri (Ojediran *et al.*, 2018).

Tanin terkondensasi tersusun atas polimer flavan-3-ol atau flavan 3,4-diol (Proantocyanidins) dengan rantai C-C atau C-O-C. Tanin terkondensasi merupakan hasil dari sintesis asetat dan *shikimic acid pathways* atau yang biasa disebut dengan lignin. Polimer dari tanin terkondensasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya monomer konstituen, ukuran dari polimer, ikatan intramolekular, lokasi, dan konsentrasi. Klasifikasi tanin terkondensi berdasarkan posisi gugus hidroksil (OH) pada cincin rantai sampingnya. *Proantocyanidin* yang tersusun dari *procyanidin* dan *prodelphinidins* dimana gugus hidroksil terletak pada cincin B (McMahon *et al.*, 2000). Warna pada biji sorgum dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya warna dan ketebalan dari pericarp, lapisan pada testa, tekstur dan warna dari endosperma. Terdapat hubungan antara warna dan kandungan tanin pada biji sorgum diantaranya adalah komponen fenolik, kandungan tanin, pigmen dari perikarp dan testa pada biji sorgum. (Sedghi *et al.*, 2012)

Sorgum memiliki kandungan protein dan karbohidrat yang cukup tinggi, namun nilai gizinya relatif rendah karena adanya tanin sebagai antigizi. Keberadaan tanin dapat menurunkan daya cerna pati (karbohidrat) maupun protein, sehingga tingkat absorpsi kedua komponen gizi tersebut di dalam tubuh rendah atau tidak sebanding karbohidrat dan protein tersedia di dalam biji sorgum. Meskipun demikian, dalam jumlah terbatas, tanin bermanfaat bagi tubuh karena bersifat antioksidan, tidak cepat lapar dan bagus untuk penderita diabetes (Jaiswal *et al.*, 2018)





**Gambar 2.2 Struktur kimia tanin** (Jaiswal *et al.*, 2018)

Tanin yang terdapat dalam biji sorgum merupakan tanin dalam bentuk terkondensasi. Tanin terkondensasi merupakan tanin yang tidak dapat dihidrolisis. Tanin jenis ini kebanyakan terdiri dari polimer flavonoid yang merupakan senyawa fenol. Nama lain dari tanin ini adalah proantosianidin. Sedangkan Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang mempunyai struktur poliester yang mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim, dan sebagai hasil hidrolisisnya adalah suatu asam polifenolat dan gula sederhana (Jaiswal *et al.* 2018) Tanin terkondensasi pada sorgum merah sebesar 0,12% hingga 3,47% Sedangkan, asam tanat yang merupakan tanin jenis hidrolisis tidak ditemukan pada sorgum (Dykes and Rooney 2006).

Upaya mereduksi tanin diharapkan dapat meningkatkan mutu gizi, terutama daya cerna pati dan protein, serta meningkatkan palatabilitas atau cita rasa produk sorgum. Berbagai metode untuk mereduksi tanin diantaranya fermentasi, perkecambahan, enzimatik, perendaman dan kimiawi. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Schons *et al.*, 2012) fermentasi dan enzim mampu menurunkan konsentrasi tanin pada tepung sorgum sebesar 92% dan 95%. Pada proses fermentasi menggunakan *Paecilomces variotii* sedangkan pada proses enzimatik menggunakan enzim fitase dan tanase. *Paecilomces variotii* merupakan

Salah satu jenis fungi yang dapat menghasilkan enzim fitase dan tanase. Peran enzim fitase dan tanase yaitu mendegradasi senyawa tanin dan fitat sehingga daya cerna protein dan pati pada tepung sorgum meningkat. berdasarkan penelitian (Armanda *et al.*, 2016) bahwa fermentasi tepung sorgum coklat menggunakan ragi tape pada konsentrasi 6% selama 18 jam mampu menurunkan kadar tanin dari 4% menjadi 1,94%

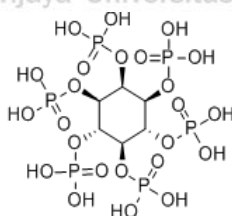


## 2.4.2 Asam fitat

Asam fitat merupakan *myoinositol 1,2,3,4,5,6- hexakis dihydrogen phosphate*, konsentrasi asam fitat pada biji berada pada kisaran 1-5% dari berat biji itu sendiri. Pada biji sorghum mengandung asam fitat dengan konsentrasi 0,57-3,35 g/100 g(dw). Asam fitat terakumulasi pada tanaman saat proses pematangan dalam bentuk kristal globoid.

Asam fitat mempengaruhi penyerapan mineral diantaranya Fe, Zn dan Ca yang dapat menurunkan bioavailabilitas (Kishor Gupta, 2012). Fitat banyak disimpan didalam tanaman dalam bentuk fosfor dengan kadar 0,06-2,22%. Pada sereal banyak ditemukan pada lapisan aleurone, kandungan fitat pada tanaman dapat meningkat dikarenakan iklim, kondisi tanah, dan irigasi (Gibson *et al.*, 2010). Fitat dapat berinteraksi dengan protein, vitamin, mineral sehingga menurunkan bioavailabilitasnya. Fitat memiliki sifat *water soluble* sehingga metode yang dapat digunakan untuk menurunkan konsentrasi fitat pada biji sorghum diantaranya adalah perendaman, fermentasi, dan perkecambahan (Elkhalifa *et al.*, 2007)

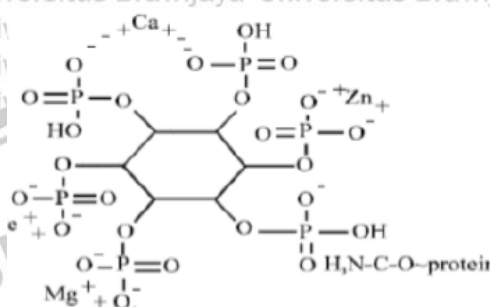
Asam fitat merupakan asam kuat yang dapat membentuk ikatan dengan tipe *bivalent* dan *trivalent kation*, besi dan fosfor merupakan salah satu contoh mineral yang dapat berikatan dengan fitat. Kompleks antara fitat-logam tidak dapat larut karena pH tubuh manusia, sehingga mineral yang telah berikatan dengan fitat menyebabkan mineral didalam tubuh rendah. Berdasarkan analisa bahwa 85% fosfor pada tanaman sorghum akan menjadi *phytin phosphorous* karena berikatan dengan fosfor. Fitat didalam tanaman akan didistribusikan ke biji dan dedak selanjutnya ke endosperma (Makokha *et al.*, 2002). Asam fitat merupakan bentuk penyimpanan fosfor yang terbesar pada tanaman sereal termasuk sorghum. Senyawa tersebut dapat mengikat mineral dalam bentuk ion sehingga ketersediaan mineral menjadi terganggu dan berpengaruh negatif terhadap defisiensi mineral, terutama zat besi. Pada biji sorghum, asam fitat terdapat dalam sel aleuron dengan kisaran 0,3-1,0% (Hurrell *et al.*, 2003)



Gambar 2.3 Struktur kimia asam fitat (Hurrell *et al.*, 2003)



Fosfat yang berikatan pada asam fitat terdiri dari dua posisi yaitu axial dan equatorial, terdapat lima gugus fosfat berada dalam posisi equator dan satu gugus dengan posisi axial. Struktur asam fitat terdiri dari 1 cicin dengan 6 cabang masing-masing cabang mengandung fosfat, rumus asam fitat  $C_6H_{18}O_{24}P_6$ . Asam fitat mampu mengikat  $K^+$   $Mg^{+}$   $Ca^{+}$  ditunjukkan pada **Gambar 2.4**. Asam fitat pada biji akan terakumulasi pada proses pematangan sedangkan, pada saat biji memasuki fase dorman konsentrasi asam fitat akan turun hingga mencapai 60-90% dari total fosfat (Nissar *et al.*, 2017)



**Gambar 2.4 Struktur kimia asam fitat berinteraksi dengan mineral dan protein**

(Nissar *et al.*, 2017)

Fitat dan protein akan berinteraksi membentuk kompleks pada pH rendah dan pH alkali, reaksi tersebut menyebabkan perubahan struktur protein yang dapat menurunkan aktivitas enzim, *protein solubility*, dan *proteolitic digestibility*. Fosfat dengan muatan negatif yang terdapat pada asam fitat dapat dengan kuat mengikat logam kation seperti Ca, Fe, K, Mg, Mn, dan Zn sehingga menjadi tidak larut dan menyebabkan logam kation tersebut tidak tersedia sebagai faktor nutrisi (Bohn *et al.*, 2008). Pembentukan kompleks mineral fitat yang tidak larut dapat menghambat penyerapan mineral pada saluran usus, hal ini akan mengurangi ketersediaan mineral penting bagi tubuh. Asam fitat juga merupakan penghambat penyerapan zat besi (Fe) yang kuat karena dalam jumlah asam fitat yang sedikit dapat menurunkan penyerapan zat besi hingga setengahnya (Lee *et al.*, 2015.)

Konsentrasi asam fitat akan menurun pada biji yang berkecambah menginformasikan bahwa perlakuan perendaman selama 72 jam dan perkecambahan selama 36 jam menghasilkan sorgum dengan konsentrasi fitat terendah yaitu dari 3% menjadi 1% , sehingga dapat diaplikasikan untuk berbagai produk pangan (Narsih *et al.*, 2010). Sayangnya, perkecambahan biji sorgum berpengaruh negative terhadap rasa dan aroma pangan yang diperoleh dari pengolahan primer tepung secara sederhana.



Sedangkan dalam proses fermentasi pada penelitian yang dilakukan oleh (Osman, 2004) menggunakan tiga jenis varietas sorgum yaitu Hamra, shehla, dan baidha, kandungan asam fitat menurun hingga 75% pada proses fermentasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Mikroorganisme pada proses fermentasi spontan menghasilkan enzim fitase yang dapat mendegradasi asam fitat, menurunnya asam fitat dapat meningkatkan bioavailabilitas dari mineral, dan daya cerna protein secara in vitro hingga 79%. Fermentasi selama delapan hari pada sorgum merah, putih dan *pearl millet* berdasarkan penelitian dari (Onyango *et al.*, 2013) bahwa fermentasi mampu menurunkan konsentrasi fitat dari 81 mg/100g menjadi 56 mg/100g pada sorgum merah sedangkan pada sorgum putih dan *pearl millet* memiliki nilai yang sama yaitu dari 68 mg/100g menjadi 46 mg/ 100g.

## 2.5 Rekayasa pengolahan Sorgum

### 2.5.1 Penyosohan

Sorgum merupakan salah satu komoditas alternatif untuk pangan, namun permasalahan umum yang dihadapi dalam pengolahan biji sorgum adalah penyosohan. Proses penyosohan bermanfaat untuk menghilangkan pericarp sorgum dan lapisan testa yang mengandung tannin dari bagian endospermnya. Tannin merupakan salah satu senyawa antigizi yang menyebabkan terganggunya system pencernaan tubuh. Terdapat dua macam proses penyosohan sorgum yaitu secara mekanis dan cara manual. Penyosohan dengan cara manual menggunakan antan kayu dengan alas penampung biji dari batu akan menghasilkan kualitas sorgum yang rendah dibandingkan dengan cara mekanis (Balitkabi, 2015). Manfaat penyosohan biji sorgum diantaranya menghasilkan biji sorgum dengan warna putih (cerah).

**Tabel 2.2** Penyosohan biji sorgum

Waktu penyosohan (menit)	Rendemen (%)	Penurunan tanin (%)
2	81,0	
2,5	76,4	
3	74,2	11,13
4	71,9	29,99
5	68,2	35,89

Sumber : Amrinola *et al.*, (2015)

Waktu yang digunakan dalam proses penyosohan akan mempengaruhi penurunan kadar tannin pada biji sorgum. (Amrinola *et al.*, 2015) menyatakan perbedaan waktu penyosohan akan menurunkan konsentrasi tanin pada bij sorgum, namun semakin



lama waktu penyosohan yang dilakukan maka rendemen yang dihasilkan akan semakin sedikit. Proses penyosohan menyebabkan lapisan testa terkikis sehingga rendemen mengalami penurunan hingga 68,2%.

### 2.5.2 Fermentasi

Fermentasi merupakan salah satu teknik pengolahan pangan yang telah lama dilakukan, fermentasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan teknik pengolahan pangan lainnya yaitu, dapat meningkatkan kualitas nutrisi dan meningkatkan *functional properties* (Kewuyemi *et al.*, 2020). Fermentasi tepung sorgum merah oleh bakteri asam laktat mampu meningkatkan kualitas nutrisi dibandingkan dengan tepung sorgum yang tidak difermentasi. BAL yang digunakan dalam proses fermentasi mampu mendegradasi protein menjadi asam amino yang mempengaruhi flavor, kandungan senyawa polifenol pada tepung sorgum merah contohnya tannin yang menyebabkan rasa pahit menurun selama proses fermentasi (Svensson *et al.*, 2010)

Fermentasi dilakukan untuk mengurangi rasa pahit yang diakibatkan oleh senyawa tanin pada nasi sorgum dan memperbaiki tekstur tepung sorgum seperti mengurangi rasa berpasir dan sifat amilografi. Fermentasi yang dilanjutkan dengan pengeringan pada suhu 60° C akan menurunkan pH sorgum dan sedikit meningkatkan pati tergelatinisasi serta kekentalannya. Fermentasi juga dapat meningkatkan ketersediaan karbohidrat, daya cerna pati, dan daya cerna protein secara *in vitro* (Schons *et al.*, 2012). Fermentasi sorghum dengan BAL juga diketahui dapat mengurangi anti-nutrien, seperti fitat (Elkhalifa *et al.*, 2007) dan tannin dari Selain itu fermentasi sereal lain secara alami menggunakan BAL diketahui dapat menghambat bakteri enteropatogen sehingga dapat meningkatkan jaminan keamanan pangan di bawah kondisi lingkungan yang tidak higienis. Kontaminasi bakteri patogen khususnya bakteri Gram negatif dan bakteri pembentuk spora antara lain *Bacillus cereus*, *Listeria*, *Salmonella* spp., *Clostridium*, *Shigella* spp. dan *Staphylococcus aureus* berkurang jumlahnya dalam proses fermentasi sorghum (Selain fermentasi, beberapa metode pengolahan lainnya seperti *decortication*, perendaman, pemasakan, pengecambahan, juga dapat mengurangi sejumlah faktor anti-nutrien dalam pangan (Belton and Taylor 2004).

Fermentasi tepung sorgum dapat dilakukan dalam dua media fermentasi yaitu fermentasi cair dan fermentasi padat, Sistem fermentasi media cair adalah fermentasi yang melibatkan air sebagai fase kontinu dari sistem pertumbuhan sel bersangkutan atau substrat, baik sumber karbon maupun mineral terlarut atau tersuspensi sebagai partikel-partikel dalam fase cair (Pradipta, 2008). Fermentasi media padat adalah



fermentasi yang substratnya tidak larut dan tidak mengandung air bebas tetapi cukup mengandung air untuk keperluan mikroba. Media berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen maupun sumber energi. Media fermentasi biasanya diberi perlakuan fisik berupa pemanasan (pemasakan, perebusan) dan perendaman (Indriani *et al.*, 2015).

Fermentasi sorgum berdasarkan penelitian dari (Ojha *et al.*, 2018) menyatakan bahwa fermentasi sorgum oleh *Lactobacillus plantarum* ( $10^7$  CFU/g) selama 48 jam pada suhu 30°C mampu menurunkan konsentrasi senyawa anti gizi diantaranya fitat, tanin, oksalat dan hydrogen sianida pada sorgum utuh yang telah ditepungkan sebesar 77., 96,7., 67,85 dan 52,3. Fermentasi tidak hanya mempengaruhi konsentrasi dari senyawa anti gizi pada sorgum namun, juga mampu mempengaruhi karakteristik fungsional diantaranya bulk density dari 0,8 g/ml menjadi 0,7 g/ml dan viskositas dari 0,94 cp menjadi 0,82 cp.

#### 2.5.2.1 Perubahan sifat fisikokimia pati sorgum selama proses fermentasi

Perubahan selama proses fermentasi pada sifat amilografi pati. Pada dasarnya menunjukkan morfologi, struktur, dan kristalinitas dari pati. Sifat ini akan berpengaruh pada granula pati baik dalam bentuk gel, larutan maupun kristal. Kandungan amilosa dan amilopektin memiliki pengaruh yang sangat besar pada sifat fisik pati (Cristine *et al.*, 2017). Keduanya saling berhubungan dalam mengubah maupun membentuk sifat yang berbeda-beda tergantung pada perlakuannya. Dalam hal ini yang termasuk sifat-sifat fisikokimia pati antara lain kandungan amilosa dan amilopektin dan daya kembang. Daya kembang Berdasarkan penelitian dari (Samuel, 2008) bahwa peningkatan daya kembang dipengaruhi beberapa faktor yaitu, suhu pemanasan, lama pemanasan dan kadar amilosa amilopektin pada bahan pangan. Daya kembang merupakan oleh kemampuan pati dalam menyerap air akibat proses pemanasan. Proses pemanasan menyebabkan Amilopektin yang berada pada daerah amorf granula pati menyerap air lebih banyak. Daerah amorf merupakan daerah yang renggang dan kurang padat sehingga mudah dimasuki dan mudah menyerap air.

Penelitian mengenai modifikasi tepung berbahan sereal telah dilakukan oleh beberapa peneliti diantaranya (Pranoto *et al.*, 2013) menyatakan bahwa fermentasi tepung sorgum putih oleh *Lactobacillus plantarum* selama 28 jam dapat meningkatkan kadar protein terlarut pada tepung sorgum. Menurut (Richana dan Suarni, 2005) modifikasi tepung jagung secara enzimatis menunjukkan perubahan sifat fisiko-kimia dan fungsional, sedangkan gula reduksi dan dekstrosa equivalen mengalami kenaikan, serta tekstur tepung termodifikasi lebih halus dibanding tepung aslinya. Menurut (Yulifianti *et al.*, 2017), mikroorganisme yang tumbuh selama proses fermentasi akan menghasilkan



enzim pektinolitik dan selulotik yang dapat menghancurkan dinding sel sehingga terjadi pelunakan granula pati. Proses pelunakan granula pati ini menyebabkan perubahan sifat fisik tepung yang dihasilkan berupa meningkatnya kemampuan membentuk gel, daya rehidrasi, dan kemudahan melarut pada tepung serta naiknya viskositas adonan.

Berdasarkan penelitian (Katresna, 2017) menyebutkan bahwa bakteri asam laktat dapat mendegradasi dan memproduksi asam laktat, adanya proses pendegradasian tersebut mengakibatkan pati menjadi berongga dan lebih porous setelah pengeringan sehingga penyerapan air semakin banyak. Hal ini menyebabkan granula pati semakin membengkak dan mengembang sehingga nilai *swelling power* meningkat.

### 2.6 Bakteri asam laktat

BAL merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim tanase. Berdasarkan penelitian (Delgadillo *et al.*, 2005) menyatakan bahwa *L.bulgaricus*, *L.lactis*, *L.fermentum*, *P.pentosaceus*, *P. cerevisia* merupakan jenis-jenis BAL yang secara alami terdapat pada produk yogurt dan dapat digunakan untuk fermentasi sorgum. BAL mampu mengontrol proses fermentasi dan meningkatkan kualitas nutrisi pada sorgum. *L.plantarum* yang telah diisolasi dari hasil fermentasi tanaman yang memiliki kandungan tannin tinggi membawa kode gen tanase *tanB<sub>LP</sub>* atau yang biasa disebut dengan *tanLp1* dan gallate decarboxylase (*lpdBCD*) yang mampu mendegradasi tanin (Jiménez *et al.*, 2014)

### 2.7 Tanase

Enzim merupakan senyawa kompleks yang tersusun dari banyak asam amino dengan keragaman bentuk, ukuran dan peranan. Tanase merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis tanin

**Tabel 2.3** Mikroorganisme penghasil enzim tanase

Mikroorganisme		
Bakteri	Jamur	Yeast
<i>Lactobacillus paraplantarum</i> <sup>1</sup>	<i>Aspergillus niger</i> <sup>3</sup>	<i>Candidda sp</i> <sup>3</sup>
<i>Lactobacillus casei</i> <sup>1</sup>	<i>Aspergillus orryzae</i> <sup>3</sup>	<i>Pichia sp</i> <sup>3</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> <sup>1</sup>	<i>Aspergillus japonicus</i> <sup>3</sup>	<i>Debarmyceshansenii</i> <sup>3</sup>
<i>Lactobacillus pentosus</i> <sup>1</sup>	<i>Rhyzopus oryzae</i> <sup>3</sup>	
<i>Lactobacillus amylovorus</i> <sup>1</sup>	<i>Fusarium solani</i> <sup>3</sup>	
<i>Lactobacillus ruminis</i> <sup>1</sup>	<i>Trichoderma amatum</i> <sup>3</sup>	
<i>Stretococcus thermophilus</i> <sup>2</sup>		
<i>lugdunensis</i>		

Sumber: Osawa *et al.*, (2000)<sup>1</sup> Correia *et al.*, (2010)<sup>2</sup> Beniwal *et al.*, (2014)



Tanase secara khusus memutuskan ikatan galoil pada tanin terhidrolisis untuk menghasilkan asam galat dan glukosa, tetapi tidak dapat mengkatalis reaksi pemutusan heksa hidroksi fenil. Selain itu, tanase juga memiliki kemampuan mengkatalis reaksi hidrolisis tanin terkondensasi untuk menghasilkan senyawa flavonoid. Tanase memiliki dua aktivitas yang terpisah yaitu aktivitas esterase dan depsidase (Osawa et al. 2000). Aktivitas esterase adalah kemampuan tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis galoil ester yang terikat pada molekul glukosa atau alkil. Sedangkan aktivitas depsidase adalah aktivitas tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis ikatan antara dua residu galoil. Enzim tanase merupakan katalis yang dapat memutuskan ikatan ester tanin terhidrolisis membentuk glukosa dan ester (Anwar, 2003). *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan tanase. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Ojha et al., 2018) fermentasi yang dilakukan selama 48 jam dengan suhu 30°C mampu menurunkan tannin pada tepung sorgum putih dari 2,6 mg/g menjadi 0,1 mg/g. Sejumlah mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan khamir diketahui dapat memproduksi tanase. Contoh mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan tanase disajikan pada **Tabel 2.6** Beberapa jenis bakteri dilaporkan mampu menghasilkan tanase secara ekstraselular. Penelitian yang dilakukan oleh (Osawa et al., 2000) yaitu memproduksi tanase dari *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus pentosus*.

## 2.8 Fitase

Fitase (*myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase*) yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis dari asam fitat (*myo-inositol hexakisphosphate*) menjadi monofosfat inorganik serta myo-inositol rendah dan beberapa menjadi myo-inositol bebas. Fitase didefinisikan sebagai golongan fosfatase yang memiliki kemampuan secara in vitro untuk membebaskan minimal satu fosfat dari asam fitat sehingga melepaskan fosfat dan menurunkan fosfatinositol yang berpotensi mengikat mineral (Bohn et al., 2008). IUPAC-IUBMB (*the International Union of Pure and Applied Chemistry and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) mengakui bahwa terdapat tiga kelompok enzim fitase yaitu 3-*phytase*, 5-*phytase*, dan 4/6-*phytase*, setiap kelompok fitase memiliki perbedaan struktur dan mekanisme dalam menghidrolisis asam fitat (Bohn et al., 2008). Fitase tersebar luas di alam, kelompok 3-*phytase* biasanya ditemukan pada mikroorganisme seperti jamur dan bakteri, kelompok 5-*phytase* merupakan alkali fitase yang ditemukan pada serbuk sari bunga lily dan 4/6-



phytaseditemukan pada tumbuhan (Lee *et al.*, 2015). Fermentasi merupakan salah satu metode yang mampu mereduksi fitat. Berdasarkan penelitian (Ojha *et al.*, 2018) menyatakan bahwa, fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* selama 48 jam dengan konsentrasi inokulum  $10^7$  cfu/g mampu menurunkan konsentrasi fitat pada tepung sorgum dari 180 mg/100g menjadi 40 mg/100g.

Sifat kimia pada fitase mampu menurunkan konsentrasi asam fitat dibandingkan dengan konsentrasi asam fitat itu sendiri. Struktur dan sifat kimia mempengaruhi asam fitat mampu mempengaruhi ikatan fitat dengan protein (Adelakun dan Duodu, 2017). Degradasi fitat dengan cara menghilangkan gugus fosfat dari cincin fitat menggunakan *exogenous* enzim. Fermentasi merupakan salah satu cara untuk mendapatkan *exogenous* enzim melalui BAL. Fitase merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh BAL pada proses fermentasi yang diklasifikasikan menjadi dua macam yaitu 3-phytase dan 6-phytase. Berdasarkan pH fitase dikelompokkan menjadi *histidine acid phosphatases* yang optimum pada pH 5 dan *alkaline phytases* yang optimum pada pH 8 (Kumar *et al.*, 2020)

**Tabel 2.4** Mikroorganisme penghasil fitase

Mikroorganisme penghasil tanase		
Fungi	Yeast	Bakteri
<i>Aspergillus niger</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus sp</i>
<i>Aspergillus ficuum</i>		<i>Pseudomonas spp</i>
<i>Aspegillus fumigatus</i>		<i>Candida tropichalis</i>
		<i>Klebsiella terringa</i>

Sumber : Kumar *et al.*, (2010).

## 2.9 Karakteristik Sorgum Fermentasi

Sorgum merupakan salah satu pangan lokal yang belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat luas hal ini dikarenakan sifat alamiah sorgum yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, kekentalan yang rendah serta kekuatan pembengkakan dan kelarutan yang rendah mengakibatkan pemanfaatan sogum oleh masyarakat menjadi rendah (Armanda *et al.*, 2016)

### 2.9.1 Daya Kembang

Daya kembang merupakan pembengkakan granula pati karena terjadi prosesgelatinisasi (Parwiyanti *et al.*, 2015) Berdasarkan penelitian dari Armanda *et al.*,



(2016) menyatakan bahwa sorgum coklat yang telah difermentasi menggunakan ragi tape mampu meningkatkan daya kembang dari tepung sorgum 7,69 g/g menjadi 8,86 g/g sedangkan kelarutan dari 33,45 menjadi 42,28%.

### 2.9.2 Daya Serap Air

Komposisi amilosa dan amilopektin pada tepung sorgum berpengaruh terhadap kemampuan daya serap air. Tepung sorgum memiliki kandungan amilopektin lebih rendah dibandingkan dengan amilosa, semakin tinggi kandungan amilosa maka kemampuan daya serap air akan semakin tinggi dikarenakan amilosa memiliki sifat hidrofobik yang lebih tinggi dibandingkan amilopektin (Andriani *et al.*, 2006). Daya serap air berdasarkan penelitian dari (Elkhalifa *et al.*, 2004) merupakan kemampuan granula pati untuk mengikat air yang pada proses gelatinisasi pati. Tepung sorgum yang difermentasi secara spontan selama 24 jam mampu menurunkan daya serap air sebesar 7% setelah fermentasi selama 16 jam.

Kemampuan granula pati dalam mengikat air akan menentukan kualitas produk akhir. Ikatan polisakarida pada protein tepung memiliki sifat hidrofilik dan hidrofobik, protein dengan sifat hidrofilik yang menentukan kemampuan pati dalam mengikat air. Meningkatnya daya serap air pada pati dikarenakan meningkatnya kelarutan, *amylose leaching*, dan berkurangnya Kristal pati (Ojha *et al.*, 2018).

### 2.9.3 Pasting properties

*Pasting properties* merupakan salah satu analisa penting untuk mengetahui untuk mengetahui karakteristik pati sorghum. Sifat amilografi akan memberikan gambaran tentang tentang karakteristik pati yang dipanaskan dalam air antara lain gelatinisasi dan viskositas. Gelatinisasi merupakan fenomena pembentukan gel yang diawali dengan pembengkakan granula pati akibat penyerapan air selama pemanasan. Granula pati memiliki sifat yang tidak dapat larut dalam dingin namun larut dalam air panas (Liu *et al.*, 2009). Aplikasi tepung atau pati sorgum didalam industri bahan pangan tergantung dari sifat fungsional seperti *dispersibility*, daya serap air, viskositas, retrogradasi, *solubility*, Komposisi dengan struktur pati sorgum diantaranya amilosa, amilopektin, kandungan fosfor, berat molekul pati, dan ukuran granula pati (Feyera, 2021). Berdasarkan dari penelitian (Olamiti *et al.*, 2020) menyatakan bahwa fermentasi sorgum mampu meningkatkan suhu gelatinisasi dari 98,27 °C menjadi 100,11 °C sedangkan, berdasarkan penelitian dari (Setiarto *et al.*, 2017) menyatakan bahwa, suhu viskositas sorgum hasil fermentasi meningkat dari 120 menjadi 220 °C.



## 2.10 Kajian Pustaka: pengaruh fermentasi sorgum terhadap komponen senyawa bioaktif pada sorgum

Sorgum mengandung senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada perikarp, komposisi dan level kandungan dari senyawa bioaktif tergantung dari sifat genotip (Dykes *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian dari (Girard and Awika 2018) bahwa, komponen senyawa bioaktif pada biji sorgum diantaranya adalah komponen polifenol khususnya flavonoid. Keunikan dari senyawa bioaktif pada sorgum adalah sorgum memiliki kandungan lemak bioaktif yang cukup tinggi diantaranya adalah polikosanol dan fitosterol yang berada pada dedak sorgum seperti perikarp, testa, lapisan aleurone. Proses pengolahan sorgum sebagai produk pangan sebagian besar menghilangkan dedak sorgum yang kaya akan senyawa bioaktif dan bermanfaat bagi kesehatan tubuh.

### 2.10.1 Pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif

Fermentasi sorgum tidak hanya mempengaruhi senyawa antigizi, seperti tanin namun juga berpengaruh terhadap senyawa bioaktif, pada penelitian yang dilakukan oleh (Adebo *et al.*, 2018a) bahwa, fermentasi mampu mensintesis senyawa bioaktif yang baru contohnya quercetin, asam galat, catechin, catechol (*ortho*-dihydroxyl), galloyl (trihydroxyl) dan rosorchinol (*meta*-dihydroxyl) grup. fermentasi menggunakan BAL mampu menurunkan konsentrasi total flavonoid dan total fenolik. BAL mampu menghidrolisis flavonoid dan fenolik menjadi komponen yang lebih sederhana yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh.

Fermentasi mampu meningkatkan bioavailabilitas dan senyawa bioaktif yang terikat pada dinding sel tanaman.  $\beta$ -glucosidase, decarboxylase, esterases, hydrolases, dan reductase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada saat fermentasi berlangsung, yang berfungsi untuk mendegradasi dinding sel tanaman sehingga bioavailabilitas dari senyawa bioaktif meningkat (Adebo *et al.*, 2018a). Berdasarkan penjelasan di atas bahwa fermentasi tidak hanya berpengaruh terhadap senyawa antinutrisi melainkan juga berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif sehingga, selama fermentasi juga perlu dilakukan pengamatan perubahan kadar senyawa bioaktif. Untuk itu dalam tesis ini dilakukan kajian pustaka mengenai pengaruh fermentasi sorgum secara tradisional terhadap komponen senyawa bioaktif.

### 2.10.2 Jenis senyawa bioaktif pada sorgum

#### Flavonoid



Flavonoid banyak terkandung pada biji sorgum, kandungan flavonoid pada sorgum merah dan putih dapat dilihat pada **Tabel 5.12** dibawah ini

**Tabel 2.5** Kandungan flavanoid pada sorgum merah dan putih

Jenis flavanoid	Sorgum merah (mg/kg)	Sorgum putih (mg/kg)
Apigenin	0,54	Nd
Katechin	3,61	4,57
Kaempferol	0,33	0,43
Lutcolin	1,34	3,95
Naringenin	0,58	1,11
Quercetin	0,17	0,49
Rutin	0,42	1,61
Vitexin	0,50	0,90

Sumber : (Przybylska *et al.*, 2019)

Pada **Tabel 5.12** dapat diketahui bahwa, kandungan asam fenolik pada sorgum merah dan putih memiliki kandungan flavonoid yang beragam. Katechin merupakan flavanoid dengan kandungan paling tinggi pada sorgum merah dan putih, Sedangkan kaempferol merupakan flavonoid dengan kandungan paling kecil. (Punia *et al.*, 2021) menambahkan bahwa kandungan flavonoid pada sorgum dipengaruhi oleh warna dari perikarp, Pada sorgum merah mengandung flavonoid sebesar  $42.84 \pm 0.35$  mg RE/100 g, sorgum coklat sebesar  $36.73 \pm 0.17$  mg RE/100 g), dan sorgum putih  $15.33 \pm 0.11$  mg RE/100 g. Berdasarkan penelitian dari (Anunciacao *et al.*, 2017). Apigenidin merupakan flavonoid yang paling banyak ditemukan pada sorgum yaitu sebesar 36,18% dari total keseluruhan flavonoid. Flavanoid sebagai antinutrisi mampu menjadi inhibitor salah satunya bagi enzim tripsin..

### 2.10.3 Asam fenolik

Sorgum mengandung fenolik yang banyak ditemukan di perikarp, testa, lapisan aleurone dan endosperma (Dykes and Rooney 2006). Biji sorgum utuh mengandung asam fenolik sebesar  $249,61 \pm 6.16$  mg GAE/g extract) (Salma A Salih *et al.*, 2020). Berdasarkan struktur karbonnya asam fenolik dibagi dalam dua kelompok yaitu, turunan asam benzoat dan asam sinamat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Przybylska *et al.*, 2019) bahwa, sorgum mengandung asam fenolik yang dapat dilihat pada **Tabel 5.13** dibawah ini:



**Tabel 2.6** Kandungan asam fenolik pada sorgum merah dan putih

Jenis asam fenolik	Sorgum putih (mg/kg)	Sorgum merah (mg/kg)
4- Hidroksibenzoat	19	11,5
Kafeat	51,5	21,5
Klorogenat	11,5	25
Ferulat	91,5	293,0
Galat	59,0	16,5
p - kumarat	71	149
Protochatechuic	83,5	142,5
Sinapic	10,5	17,5
Syringic	5,5	25
r- sinamat	nd	11,5
Vanillic	23	nd

Sumber : Przybylska *et al.*, (2019)

Pada **Tabel 5.13** dapat diketahui bahwa, pada sorgum merah dan sorgum putih memiliki komposisi asam fenolik yang berbeda, komponen asam fenolik dipengaruhi oleh warna perikarp pada biji sorgum (Punia *et al.*, 2021). Pada sorgum merah dan putih senyawa bioaktif yang memiliki kandungan paling tinggi adalah ferulat yaitu 91,5 sedangkan pada sorgum putih memiliki kandungan ferulat sebesar 293,0. Pada sorgum merah memiliki kandungan ferulat lebih tinggi karena sorgum merah memiliki warna perikarp yang lebih gelap. (Ravisankar *et al.*, 2021) menyatakan bahwa Identifikasi fenolik pada sorgum kuning dan putih yang telah difermentasi memiliki perbedaan pada nilai kandungan senyawa bioaktif. Sorgum kuning mengandung monoglikoside, naringenin dan kalkon pada posisi 5 dan 7 sedangkan, pada sorgum putih senyawa bioaktif yang teridentifikasi adalah kafeat, kumarat dan ferulat. Perbedaan kandungan senyawa bioaktif pada sorgum kuning dan putih dipengaruhi oleh respon sorgum terhadap metabolisme mikroba pada proses fermentasi. Pada sorgum merah bahwa kandungan antioksidan akan memiliki korelasi positif dengan total fenolik. Fermentasi menggunakan BAL akan menurunkan kandungan fenolik pada sorgum merah menggunakan enzim fenolik dekarboksilase dan asam fenolik reduktase (Svensson *et al.*, 2010)

#### 2.10.4 Asam tanin

Asam tanin merupakan salah satu antinutrisi pada sorgum karena mampu berikatan dengan protein, sebagai inhibitor enzim pencernaan, dan menurunkan ketersediaan vitamin dan mineral (Amarowicz, 2007). Fermentasi menggunakan BAL



akan menghasilkan enzim tanase yang berfungsi sebagai : (1) Memutus ikatan antara tanin dan protein sehingga akan menghasilkan asam amino bebas (Sade Omoba and Rasheed Isah 2018) dan tanin. (2) Enzim tanase menjadi katalis yang dapat memutuskan ikatan ester pada tanin menjadi glukosa dan ester (Anwar, 2003). Tanin yang sudah tidak terikat dengan molekul lain akan memiliki sisi lain sebagai senyawa bioaktif yang berperan dalam kesehatan tubuh. Tanin tidak berfungsi sebagai antioksidan primer dengan kata lain tanin tidak dapat mendonasikan hidrogen atau elektron. Tanin berfungsi sebagai antioksidan sekunder yang berfungsi sebagai *metal chelator* seperti FE(II) (Amarowicz, 2007).

### 2.10.5 Asam fitat

Asam fitat mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein yang menyebabkan ketersediaan protein menjadi rendah (Verni *et al.*, 2019). Fermentasi menggunakan BAL akan menghasilkan enzim fitase. Fitase (*myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase*) yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis dari asam fitat (*myo-inositol hexakisphosphate*) menjadi monofosfat inorganik serta myo-inositol rendah dan beberapa menjadi asam fitat bebas (Bohn *et al.* 2008). Asam fitat berfungsi sebagai antioksidan diantaranya (1) menjadi inhibitor terbentuknya peroksidasi lemak. Asam fitat mampu menghidrolisa hidroperoksida menjadi aldehid dan produk primer. (2) sebagai inhibitor autooksidasi pada asam linoleat dan FE(II) peroksidasi.

### 2.10.5 Saponin

Saponin pada sorgum dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan berbagai masalah bagi kesehatan tubuh dan sebagai inhibitor absorpsi dari vitamin A dan E. fermentasi mampu mendegradasi saponin sehingga konsentrasi didalam tubuh pada batas aman dan bermanfaat bagi kesehatan tubuh (Samtiya *et al.*, 2020). Saponin berfungsi mencegah terbentuknya kolesterol dan memiliki aktivitas haemolitik (Adegbehingbe, 2015).

### 2.11 Antioksidan

Antioksidan pada sorgum merupakan komponen fenolik yang berfungsi menjaga kesehatan (Zhang *et al.*, 2019), salah satunya adalah mencegah terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas adalah atom yang memiliki atom bebas atau elektron yang tidak



berpasangan sehingga, bersifat radikal. Elektron yang tidak berpasangan akan mengikat molekul lain yang dapat menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan (Adelakun dan Duodu, 2017). Mekanisme antioksidan dalam menangkal radikal bebas dijelaskan oleh (Pisoschi dan Negulescu, 2011) terbagi dalam empat tahapan yaitu, inisiasi, propagasi, branching dan terminasi. Metode analisa antiosidan salah satunya adalah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Aktivitas antioksidan memiliki korelasi positif dengan kandungan komponen fenolik. Sorgum yang memiliki warna pericarp hitam dan coklat memiliki kadungan aktivitas antioksidan yang tinggi. 3-deoxyanthocyanidins memiliki kandungan aktivitas quinone oxyreductase (NQO) yang berfungsi sebagai antikanker (Zhang *et al.*, 2019).





## BAB III

## KERANGKA PENELITIAN

## 3.1 Kerangka pikir penelitian

Indonesia merupakan Negara yang kaya akan sumber pangan salah satunya adalah sorgum. Sorgum merupakan salah satu tanaman sereal yang mudah dibudidayakan, produksinya tinggi, dapat tumbuh dengan iklim yang kering, dan berkadar garam yang tinggi, sehingga cocok dengan iklim di Indonesia. Sorgum merah merupakan sorgum yang digunakan dalam penelitian ini, berdasarkan penelitian (Towo *et al.*, 2006) menyatakan bahwa semakin gelap warna perikarp dari biji sorgum maka konsentrasi tanin akan semakin tinggi.

Sorgum dapat diolah dalam berbagai macam produk diantaranya : sirup, gula kecap sorgum, beras sorgum merah utuh, beras sorgum merah sosoh dan tepung sorgum merah sosoh. Produk-produk tersebut dikhususkan bagi penderita diabetes, autoimun, jantung dan kanker. Berdasarkan penelitian dari (Dykes and Rooney, 2006), bahwa sorgum kaya akan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas yang dapat menjadi penyebab berbagai macam penyakit salah satunya adalah kanker. Selain itu, tanin merupakan salah satu komponen fenolik yang mampu membentuk ikatan yang kuat dengan protein dan makromolekul lainnya yang dapat menyebabkan memberikan efek kurang bagus terhadap ketersediaan protein didalam tubuh (Iqbal *et al.*, 2011). Pada produk sorgum yang digunakan dalam penelitian ini, tanin menjadi penyebab utama rasa pahit, tekstur berpasir dan tanin mampu berikatan dengan pati dan protein sehingga daya cernanya rendah (Pranoto *et al.*, 2013). Sehingga menyebabkan pemanfaatan sorgum oleh masyarakat menjadi rendah.

Untuk meningkatkan daya terima masyarakat terhadap produk olahan sorgum dapat melalui rekayasa pengolahan yang mampu menghidrolisis tanin pada sorgum sehingga rasa pahit pada produk olahan sorgum dapat berkurang dan meningkatkan daya cerna pati dan protein. Metode rekayasa pengolahan memiliki kelebihan dan kekurangan dapat ditunjukkan pada **Gambar 3.1**, metode enzimatis memiliki kelebihan mampu menghidrolisa tanin hingga 95% namun, harga enzim yang mahal sehingga tidak mudah diaplikasikan oleh masyarakat (Schons *et al.*, 2012), metode perkecambahan memiliki kelebihan mampu menghidrolisa tanin hingga 33%, namun perkecambahan dapat menurunkan cita rasa dari sorgum (Ojha *et al.*, 2018), pada metode kimiawi sama halnya dengan metode perkecambahan yaitu, mampu menurunkan tanin hingga 33%, namun penggunaan senyawa kimia memiliki resiko kesehatan pada tubuh (Singh *et al.*, 2010) metode fermentasi mampu menurunkan tanin hingga 92%



mudah diaplikasikan oleh masyarakat yaitu dapat dilakukan secara spontan maupun menggunakan inokulum murni (Osman, 2004), namun fermentasi berisiko kontaminasi silang. metode fisik yaitu penyosohan mampu menurunkan konsentrasi tanin dari 4% menjadi 2% namun metode penyosohan dapat menurunkan rendemen hingga 68% (Amrinola *et al.*, 2015)

Biji sorgum merah merupakan produk sorgum yang digunakan dalam penelitian ini dan metode fermentasi dipilih untuk menghidrolisa tanin sehingga kualitas sorgum meningkat. Fermentasi merupakan salah satu metode yang mampu meningkatkan kualitas sorgum merah dengan cara menghidrolisis senyawa antigizi menyederhanakan komponen makromolekul sehingga daya cerna sorgum merah meningkat, memperbaiki sifat amilografi dan fisikokimia sorgum beras merah (Zay dan Clue, 2006). Fermentasi spontan dan fermentasi menggunakan inokulum murni *Lactobacillus plantarum* dengan metode fermentasi cair dipilih dalam penelitian ini.

Fermentasi spontan dengan memanfaatkan mikroorganisme alami pada sorgum merah. Fermentasi menggunakan inokulum murni berdasarkan penelitian dari (Delgadillo *et al.*, 2005) dapat menggunakan *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* memiliki aktivitas proteolitik dan amilolitik serta mampu memproduksi tanase. Tanase berfungsi untuk menghidrolisa antigizi pada tepung sorgum. pada tanin serta sebagai inhibitor tanin berikatan dengan protein.

Sorgum merah merupakan sorgum yang dapat ditanak seperti nasi yang dikhususkan bagi penderita diabetes. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Kurniadi *et al.*, 2019) menyatakan bahwa sorgum jenis pahat (sorgum merah) yang disosoh selama lima menit sebelum ditepungkan dan difermentasi menggunakan *L.plantarum* FNCC 0027 mampu mereduksi senyawa antigizi menjadi 0,073%. Hasil penelitian pendahuluan pada tepung sorgum merah bahwa kandungan tanin pada sorgum merah yang telah disosoh sebesar 0,7% sedangkan, berdasarkan standart codex batas maksimum kandungan tanin pada tepung adalah 0,3%. Sehingga tepung sorgum merah masih harus dilakukan proses fermentasi hingga mencapai konsentrasi dibawah batas maksimum

Konsentrasi inokulum merupakan jumlah sel BAL (cfu/ml) yang digunakan dalam fermentasi sedangkan lama fermentasi merupakan lama waktu yang dibutuhkan BAL untuk bekerja secara optimal, menghasilkan enzim tanase yang berfungsi untuk mendegradasi senyawa tanin sehingga dapat meningkatkan daya cerna protein dan memperbaiki sifat fisik tepung sorgum. Berdasarkan penelitan dari (Osman, 2004) dengan menggunakan tiga jenis sorgum yaitu, Hamra, Sahla, dan Baidha dan lama fermentasi 24 jam mampu menurunkan konsentrasi tanin sebesar, 31%,15%,dan 35%. Daya cerna protein pada tepung sorgum putih meningkat dari 46,89% menjadi 92,08% dengan konsentrasi *L.plantarum*  $10^8$  cfu /ml yang difermentasi selama 36 jam (Pranoto *et*



al., 2013). Sehingga optimasi konsentrasi inokulum dan lama fermentasi menjadi perlu dilakukan untuk memperoleh daya cerna protein dan sifat fisik tepung sorgum fermentasi yang optimal.

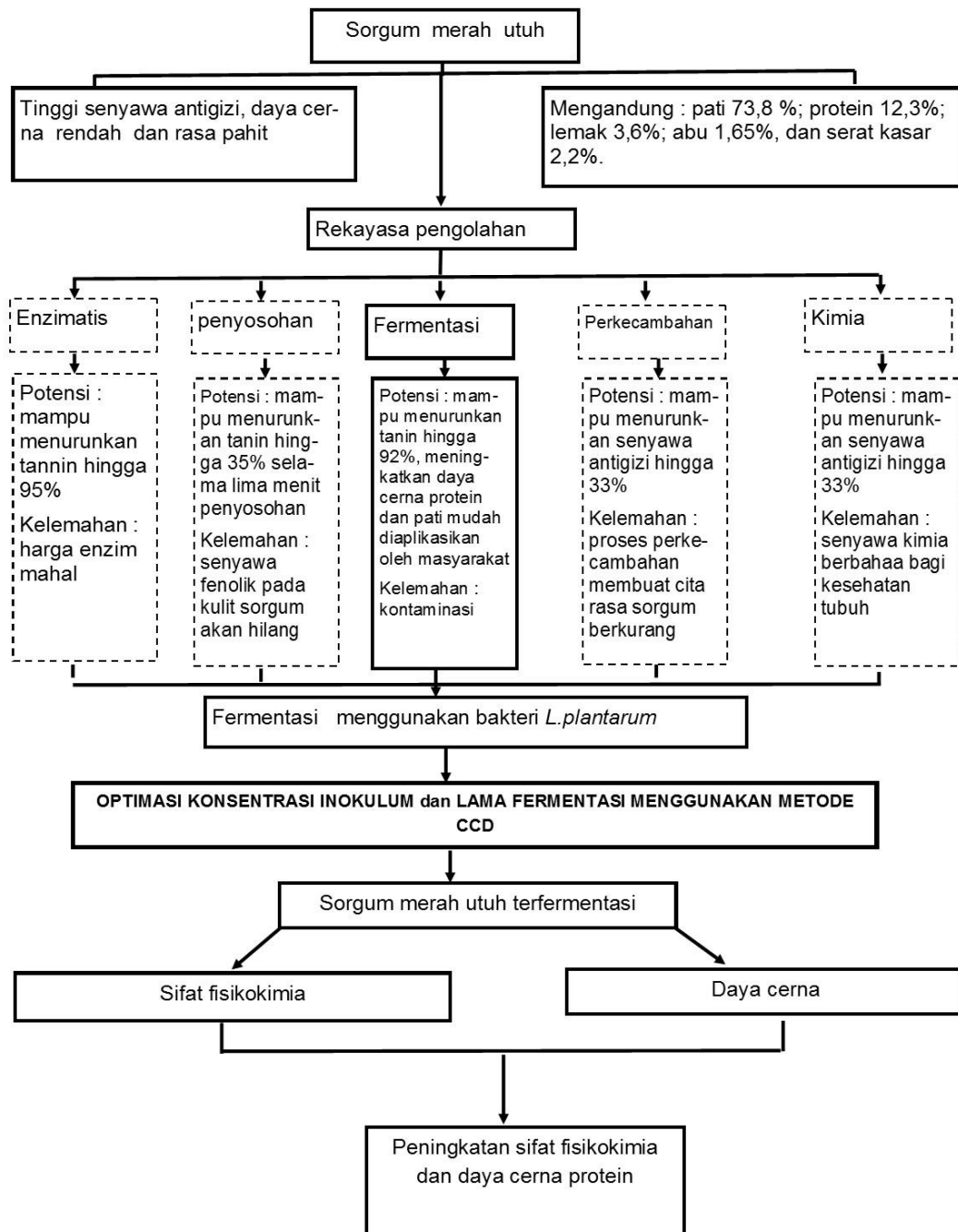
Aplikasi tepung sorgum fermentasi pada dunia pangan akan ditentukan berdasarkan sifat fungsional atau *Pasting properties*. *Pasting properties* pada tepung sorgum fermentasi akan menentukan metode pengolahan yang akan digunakan dan produk pangan yang akan dihasilkan (Falade et al., 2015).





### 3.2 Skema kerangka penelitian

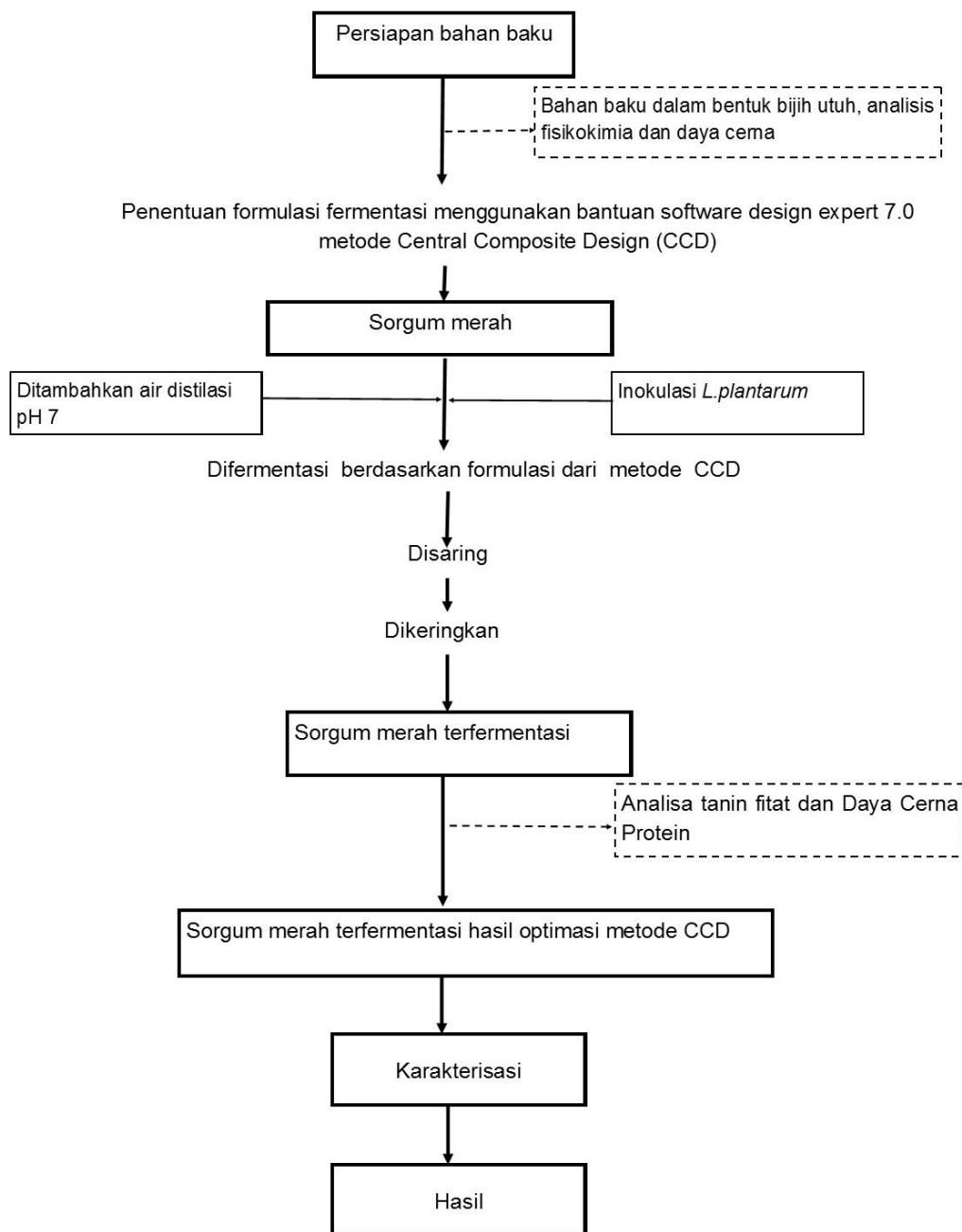
#### 3.2.1 Skema kerangka pikir



Gambar 3.1 Skema Kerangka Pikir



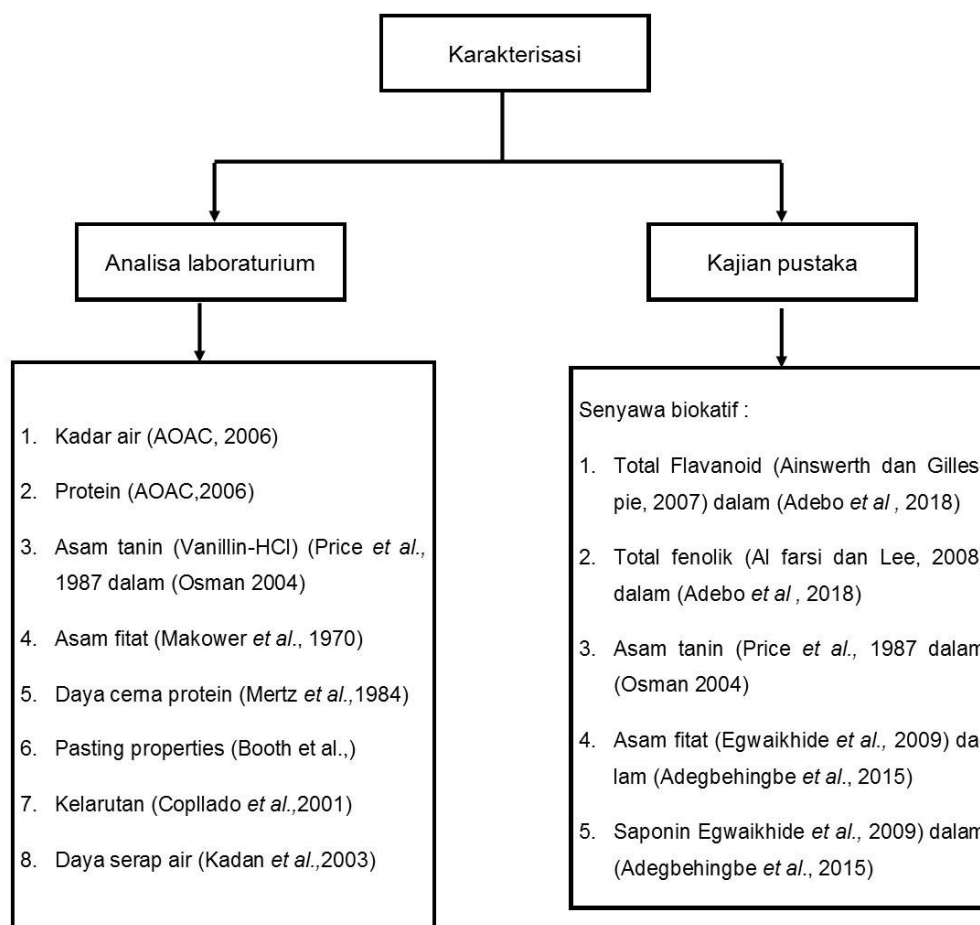
### 3.2.2 Skema kerangka operasional fermentasi biji sorgum merah



Gambar 3.2 Skema Kerangka Operasional



### 3.2.3 Skema kerangka operasional karakterisasi fermentasi biji sorgum merah



Gambar 3.3 Skema Kerangka Operasional



### 3.3 Hipotesa

1. Diduga bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum yang optimal mampu menurunkan konsentrasi tanin dan fitat, memperbaiki kualitas sifat fisikokimia, dan daya cerna protein sorgum merah
2. Diduga menurunnya konsentrasi tanin dan fitat pada sorgum merah dapat meningkatkan daya cerna protein



## BAB IV

## METEDOLOGI PENELITIAN

## 4.1 Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Teknologi Pengolahan Pangan, Laboratorium Biokimia Pangan, Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Biologi Dasar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Keseluruhan penelitian dilaksanakan pada bulan November 2019 sampai dengan Januari 2021.

## 4.2 Alat dan Bahan penelitian

## 4.2.1 Alat

Alat- alat yang digunakan antara lain pendingin balik, saringan vakum, *shaker waterbath* (Memmert), mikroskop (Olympus CO11), spektrofotometer (Labomed Inc), autoklaf semi otomatis, labu Kjeldahl, soxhlet, sentrifuge (Gemmy), *cabinet dryer*, timbangan analitik (Denver Instrument), vortex (Lw scientific), desikator (Nucelite), kompor listrik (Maspion), dan *color reader*, autoklaf (Geal L5-100A), inkubator, waterbath (Memmert), pH meter (Hana HI8424), ayakan Retsch 5657 ukuran 60 mesh, furnace, *glassware blender*, bunsen, pipet tetes, bola hisap, kertas saring, kertas aluminium foil, cawan porselen.

## 4.2.2 Bahan penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam sorgum merah ( *Sorghum bicolor* (L) Moench) yang diperoleh dari PT Sedana Panen Sejahtera , kultur murni *Lactobacillus plantarum* ATCC 14977 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Enzim protease (*pepsin from porcine stomach* P0103) yang diperoleh dari Tokyo chemical industry CO.,LTD. Bahan yang digunakan untuk analisa adalah Vanilin (Merck), Etanol, aquades, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (Merk Sigma Lab), etanol (Merck Milipour), PE (Petroleum



ether) Merck Milipour, alkohol (brataco), HCl (Hydrochloric Acid) Merck Milipour, NaOH (sodium-hydroxide) Merck Milipour, Nelson, arsenomolibdat, asam asetat, Iodine, tablet Kjeldahl, indikator PP, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Boric Acid) Merck, indikator metil merah, pepton, MRSA (deMann Rogosa Sharpe Agar) Merck, MRSB (deMann Rogosa Sharpe Agar) Merck, agarose Merck, glucose anhydrat, laruta luff schoosl, iodium, folin denis, asam tanat, eter dan air distilasi pH 7. Semua bahan-bahan kimia diperoleh dari Laboratorium Kimia dan Biokimia Teknologi Hasil Pertanian.

### 4.3 Metode penelitian

#### 4.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui *range* lama fermentasi dan konsentrasi inokulum dari *L.plantarum* yang maksimal untuk menurunkan konsentrasi asam tanin pada biji sorgum merah. Penelitian pendahuluan dilakukan analisa diantaranya *Total Plate Count* (TPC), Total Asam (TA), pH dan asam tanin. Konsentrasi inokulum yang digunakan pada penelitian pendahuluan pada *range* 1-10% sedangkan, lama fermentasi dilakukan selama 12,24,32,48,60 dan 72 jam. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh trend penurunan tanin, hasil penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 3**. Hasil tren penurunan tanin pada penelitian sebelumnya akan dipilih 3 pada masing –masing faktor untuk dilakukan analisa menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan uji lanjut menggunakan DMRT selang kepercayaan 95%. Hasil pengulangan dari penelitian pendahuluan menggunakan RAK dapat diketahui pada **Lampiran 4**

##### 4.3.1.1 TPC

**Tabel 4.1** Perhitungan jumlah sel bakteri menggunakan metode TPC

Konsentrasi inokulum (%)	TPC (cfu/ml)
3	$1,78 \times 10^6 \pm 2^c$
6	$3,18 \times 10^6 \pm 1,5^b$
9	$6,05 \times 10^6 \pm 1^a$

Keterangan : 1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha = 0,05$ )



Pada **Tabel 4.1** dapat diketahui bahwa pada setiap konsentrasi inokulum memiliki nilai TPC yang berbeda. Nilai TPC dipengaruhi oleh jumlah konsentrasi inokulum yang digunakan, pada konsentrasi inokulum 3% memiliki nilai TPC paling rendah yaitu  $1,78 \times 10^6$ , sedangkan pada konsentrasi inokulum 9% memiliki nilai TPC yang paling tinggi yaitu  $6,05 \times 10^6$ . Pada masing – masing perlakuan diperoleh notasi yang berbeda yang dapat diartikan bahwa penambahan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata terhadap penambahan pertumbuhan BAL.

#### 4.3.1.2 pH dan Total asam

**Tabel 4.2** Hasil analisa pH dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ )

Kons. Inokulum (%)	Lama fermentasi (Jam)		
	36	48	60
3	$6 \pm 0,75$	$5,9 \pm 0,94$	$5,9 \pm 0,79$
6	$6 \pm 0,6$	$6 \pm 0,72$	$5,8 \pm 0,81$
9	$6 \pm 0,62$	$6 \pm 0,72$	$5,8 \pm 0,81$

Keterangan :1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

Berdasarkan **Tabel 4.2** dapat diketahui bahwa kombinasi konsentrasi inokulum dan lama fermentasi menghasilkan nilai pH sebagai berikut pada lama fermentasi 36 jam dengan konsentrasi inokulum 3% diperoleh pH 6 sedangkan, pada lama fermentasi 60 dengan konsentrasi inokulum diantara 9% diperoleh nilai pH paling rendah yaitu 5,8. Pada respon pH, bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan pH ( $\alpha = 0,05$ ) yang dapat diartikan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan pH. Hal tersebut dapat dikarenakan kombinasi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum yang terlalu rapat.

**Tabel 4.3.** Hasil analisa total asam (TA) dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ )

Kons. Inokulum (%)	Lama fermentasi (Jam)		
	36	48	60
3	$0,6 \pm 0,15$	$0,65 \pm 0,94$	$0,69 \pm 0,11$
6	$0,98 \pm 0,32$	$0,85 \pm 0,13$	$0,75 \pm 0,2$
9	$0,91 \pm 0,9$	$0,93 \pm 0,75$	$0,97 \pm 0,11$

Keterangan :1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan



Berdasarkan hasil analisa pada **Tabel 4.3** bahwa nilai total asam pada konsentrasi inokulum 3% dengan lama fermentasi 36 jam memiliki nilai total asam paling rendah yaitu 0,6 sedangkan pada konsentrasi inokulum 9% dengan lama fermentasi 60 jam memiliki nilai total asam paling tinggi yaitu 0,97. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh tidak nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap peningkatan nilai total asam. Hal tersebut dapat dikarenakan jarak antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum terlalu dekat. Fermentasi dengan menggunakan inokulum murni dari *L.plantarum* yang dapat memproduksi asam laktat selama proses fermentasi. Akumulasi dari asam laktat mampu menurunkan pH dan meningkatkan total asam pada fermentasi sorgum (Adebo *et al.*, 2018b). Berdasarkan penelitian dari (Pranoto *et al.* 2013) bahwa fermentasi tepung sorgum putih menggunakan *L.plantarum* selama 36 jam dengan konsentrasi inokulum 1% mampu menurunkan pH dari 5,80 menjadi 3,34 dan meningkatkan total asam dari 1% menjadi 1,4%. Perbedaan antara hasil analisa dan literatur dapat dikarenakan kondisi fermentasi dan perbedaan jenis dari sorgum.

#### 4.3.1.3 Tanin

**Tabel 4.4.** Hasil analisa asam tanin terkondensasi (mg/100g) dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ )

Kons. Inokulum (%)	Lama fermentasi (Jam)		
	36	48	60
3	104,57 $\pm$ 0,2 <sup>f</sup>	95,92 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>	94,67 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
6	98,87 $\pm$ 2 <sup>e</sup>	78,72 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	78,93 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>
9	94,9 $\pm$ 0,57 <sup>c</sup>	55,43 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	54,11 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>

Keterangan :1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Berdasarkan hasil analisa asam tanin terkondensasi yang disajikan pada **Tabel 4.4.** dapat diketahui bahwa nilai asam tanin tertinggi yaitu 173,73 mg/100g pada lama fermentasi 12 jam dengan konsentrasi inokulum 2% sedangkan, nilai asam tanin paling rendah terdapat pada konsentrasi inokulum 6% dengan lama fermentasi 48 jam. Hal tersebut dikarenakan jumlah sel BAL dan lama fermentasi pada konsentrasi inokulum 2% dengan lama fermentasi 12 jam tidak mencukupi untuk mendegradasi tanin secara sempurna. Berdasarkan penelitian dari (Jaiswal *et al.*, 2018) bahwa, tanin pada sorgum menyebabkan rendahnya daya cerna protein. Hal tersebut dikarenakan tanin dapat membentuk ikatan yang kompleks



dengan protein. Berdasarkan penelitian dari (Pranoto et al., 2013) bahwa, fermentasi menggunakan *L.plantarum* mampu memecah ikatan antara protein dengan tanin sehingga daya cerna protein meningkat. Berdasarkan penelitian dari (Osawa et al., 2000) bahwa, *L.plantarum* mampu menghasilkan enzim tanase.

Enzim tanase merupakan katalis yang dapat memutuskan ikatan ester tanin terhidrolisis membentuk glukosa dan ester.

Pada hasil penelitian pendahuluan dapat diketahui bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap penurunan tanin pada. Tujuan dari penelitian pendahuluan menggunakan RAK adalah mencari titik tengah (0) yang akan digunakan pada penelitian utama menggunakan *Respon Surface Methodology* (RSM). Titik tengah, batas atas dan batas bawah dapat dilihat pada Tabel 4.5.

### 4.3.2 Penelitian Utama

#### 4.3.2.1. Optimasi fermentasi sorgum menggunakan *L.plantarum*.

Pada penelitian utama bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap respon yaitu tanin, fitat, dan daya cerna protein.

**Tabel 4.5** Faktor dan respon yang digunakan dalam desain RSM

Faktor	Variabel independen				Respon	Variabel Dependen	
	Kode	Unit	Batas bawah	Batas atas		Unit	Target nilai
Konsentrasi inokulum	X <sub>1</sub>	%	3	9	Tanin	mg/100g	Minimum
					Fitat	mg/100g	Minimum
Lama fermentasi	X <sub>2</sub>	Jam	36	60	Daya cerna protein	%	Maksimum

Rancangan percobaan menggunakan metode RSM CCD menggunakan konsentrasi inokulum 3,6,dan 9% sedangkan lama fermentasi 36, 48 dan 60 jam .

Respon yang diamati adalah tanin, fitat dan daya cerna protein. Penelitian ini dirancang untuk mengetahui kondisi optimal fermentasi biji sorgum utuh oleh *Lactobacillus plantarum* dengan 13 perlakuan. Pengujian dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel independen yaitu konsentrasi inokulum dan lama



fermentasi terhadap variabel dependen yaitu, penurunan senyawa antigitizi (fitat dan tanin) dan peningkatan daya cerna protein.

**Tabel 4.6** Rancangan percobaan dan optimasi fermentasi sorgum

Kode sampel	Kode variabel Konsentrasi inokulum (%)	Respon Y Lama fermentasi (Jam)	Tanin (mg/100g bk)	Fitat (mg/100g bk)	Daya Cerna Protein (%)
1	6	65			
2	1,76	48			
3	6	48			
4	6	48			
5	10,24	48			
6	6	48			
7	9	60			
8	9	36			
9	6	31			
10	6	48			
11	6	48			
12	3	36			
13	3	60			

Rancangan percobaan dan optimasi formulasi fermentasi diperoleh dari *software Design Expert* metode *CCD* sorgum. Fermentasi sorgum merah utuh dengan menambahkan aquades steril pH 6,5 dengan perbandingan 1:2 (*Solid State Fermentation*) dengan dua kali ulangan. Hasil optimasi fermentasi dapat diketahui pada **Lampiran 6**.

#### 4.3.2.2 Karakterisasi tepung sorgum hasil optimasi

Sorgum yang dihasilkan dari kondisi optimal lama fermentasi dan konsentrasi inokulum dalam penurunan tanin dan fitat dan peningkatan daya cerna protein, selanjutnya dilakukan karakterisasi sifat fisikokimia tepung. Karakterisasi dilakukan dalam dua macam analisa penelitian yaitu analisa langsung dilakukan di laboratorium dan berdasarkan kajian pustaka.. Analisa pada



laboratorium diantaranya, kadar air, protein, daya kembang, daya serap air, kelarutan, *pasting properties* tepung sorgum menggunakan *Rapid Visco Analyzer*.

Berdasarkan hasil pertimbangan masa pandemi Covid 19 seperti pada saat ini maka, Pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif pada sorgum merah tidak dilakukan analisa secara langsung pada laboratorium melainkan menggunakan literatur review. Analisa senyawa bioaktif diantaranya adalah flavonoid, fenolik, asam tanin, asam fitat, dan saponin. Karakteristik tepung sorgum hasil fermentasi bertujuan untuk mengetahui sifat dari tepung sorgum hasil fermentasi yang nantinya akan dibandingkan dengan bahan baku dan akan digunakan untuk menentukan kualitas produk akhir dari tepung sorgum.

#### **4.3.2.3 Kajian pustaka : Pengaruh fermentasi terhadap senyawa bioaktif pada sorgum merah**

Penelitian dilakukan dengan metode studi literatur yaitu melalui analisa terintegrasi tulisan ilmiah (jurnal, tesis dan disertasi) yang terkait langsung dengan pertanyaan penelitian dan diperoleh sesuai dengan topik. Pada metode kajian pustaka dengan tema pengaruh fermentasi bii sorgum merah terhadap senyawa bioaktif. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekunder yang tidak diperoleh dari penelitian langsung, namun diperoleh dari hasil penelitian yang dilakukan oleh penelitian sebelumnya. Sumber data sekunder yang diperoleh merupakan jurnal bereputasi nasional dan internasional. Pencarian literatur dalam literatur review ini menggunakan tiga database yaitu Google scholar, Science direct dan Pubmed. Hasil dari pencarian literature review akan dikompilasi dalam sebuah tabel, dilakukan analisa, dan membuat kesimpulan.

##### **4.3.2.3.1 Tahapan kajian pustaka**

Berdasarkan hasil pencarian literature yang diperoleh melalui publikasi di tiga database yaitu Google scholar, ScienceDirect dan Pubmed. Dengan menggunakan kata kunci diantaranya “ *bioactive compound* ”, “ *bioactive compound in sorghum* ”, “ *bioactive compound in sorghum fermentation* ”, “ *bioactive compound sorghum polyphenols*”, “ *bioactive compound content in sorghum flour fermentation* ”, “ *sorghum bicolor total phenolic compounds* ”, “ *sorghum bicolor l moench bioactive compound* ”. Peneliti mendapatkan 150 jurnal yang sesuai dengan kata kunci tersebut setelah pengecekan lebih lanjut diperoleh



130 jurnal yang sesuai dengan kriteria sisanya jurnal masih dalam tahap *manuscript yang belum diterima* oleh pihak reviewer jurnal. Pengecekan dilanjutkan dan ditemukan bahwa jurnal tidak berfokus pada fermentasi sorgum melainkan pada biji-bijian lainnya seperti quinoa dan sebagainya. Jurnal yang telah sesuai kriteria dilakukan pengecekan lebih lanjut dan ditemukan 50 jurnal yang tidak sesuai dengan kriteria. Jurnal tidak secara khusus membahas tentang senyawa bioaktif pada biji sorgum, fermentasi biji sorgum yang bukan untuk pangan melainkan untuk penggunaan non pangan misalnya fermentasi sorgum untuk biodiesel, methanol dan sebagainya. Pada tahap akhir seleksi jurnal terdapat 20 jurnal yang sesuai *fulltext* dengan tujuan kajian pustaka yaitu, jurnal dengan tema senyawa bioaktif pada sorgum. Tahapan kajian pustaka dapat dilihat dalam diagram alir **Gambar 4.1**

#### 4.3.2.3.2 Menyusun garis besar penulisan

Analisa kualitas metodologi dalam setiap studi jurnal  $n=20$ , dilakukan analisa diantaranya proses pre-treatment sorgum, proses fermentasi, kondisi fermentasi, mikroorganisme yang digunakan, metode analisa, dan hasil penelitian. Selanjutnya menyusun kajian pustaka dari berbagai jurnal yang telah dilakukan analisa menarik benang merahnya, mengidentifikasi adanya hubungan dalam jurnal yang telah dianalisa. Langkah selanjutnya adalah penyusunan kerangka penelitian, penyusunan sub-bab, lalu penyusunan data hasil penelitian-penelitian yang mendukung tiap sub-bab, dan melakukan penetapan pembahasan. Hasil yang diharapkan dalam proses penyusunan kajian pustaka adalah hasil analisa yang telah disusun secara jelas, menjawab secara kritis, logis dan ilmiah

#### 4.3.2.3.3 Menyusun data dan melakukan analisa

Penyusunan data berdasarkan hasil literature jurnal yang diperoleh akan disusun dalam bentuk tabel, untuk selanjutnya isi jurnal dari tabel dideskripsikan dan dianalisa. Hasil analisa disusun menjadi satu kesatuan dengan penambahan literature lain yang mendukung sebagai pembanding atau sebagai pelengkap. Dalam pembahasan analisa jurnal akan disusun sebagai berikut, menjelaskan komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan yang ditemukan pada sorgum, proses fermentasi sorgum dan mikroorganisme yang digunakan, metode analisa, dan pengaruh fermentasi terhadap komponen dan aktivitas antioksidan pada sorgum



#### 4.4 Pelaksanaan penelitian

##### 4.4.1 Optimasi fermentasi biji sorgum merah utuh

1. Sorgum ditimbang sebanyak 500 gr
2. Sorgum dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dari kotoran dan debu
3. Sorgum yang telah dicuci dikeringkan
4. Dimasukkan kedalam toples dengan volume 1500 ml
5. Ditambahkan aquades steril pH 6,5 dengan perbandingan 1:2
6. Diinokulasikan *L.plantarum* dan difermentasi sesuai dengan RSM metode CCD
7. Disaring
8. Dikeringkan menggunakan oven suhu 70°C selama 4 jam
9. Dihaluskan menggunakan blender
10. Diayak menggunakan ayakan 80 mesh
11. Dilakukan analisa fitat, tanin dan daya cerna protein
12. Dilakukan karakterisasi pada tepung sorgum hasil fermentasi meliputi *pasting properties*, daya kembang, kelarutan, daya serap air, kadar air dan protein.

##### 4.4.2 Kajian pustaka: pengaruh fermentasi terhadap kandungan senyawa bioaktif pada sorgum merah

1. Pencarian literatur (jurnal) yang diperoleh melalui publikasi
2. Proses pengecekan dan pengelompokan jurnal
3. Menyusun garis besar penelitian
4. Menyusun data dan melakukan analisa

#### 4.5 Metode Analisa

Metode analisa yang digunakan pada penelitian fermentasi sorgum menggunakan *L.plantarum* adalah sebagai berikut dibagi menjadi tiga yaitu analisa bahan baku, penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penjelasan lebih terperinci untuk metode analisa dapat dilihat pada **Lampiran 1**

##### 4.5.1 Analisa penelitian pendahuluan

1. Total Plate Count (Cappucino dan Sherman, 2014)
2. pH (Pranoto *et al.*, 2013)
3. Total asam (Pranoto *et al.*, 2013)



4. Kadar asam tanin (Vanillin-HCl) (Price *et al.*, 1987 dalam (Osman 2004)

#### 4.5.2 Analisa pada penelitian utama

1. Kadar Tanin (Vanilin-HCl) (Price *et al.*, 1987 dalam Osman 2004)
2. Kadar Fitat (Makower *et al.*, 1970)
3. Daya cerna protein (Mertz *et al.*, 1984)

#### 4.5.3 Karakterisasi tepung sorgum dari biji sorgum bahan baku dan hasil fermentasi

Hasil optimasi akan dilakukan verifikasi sebanyak tiga kali dan dilakukan karakterisasi yaitu :

1. Kadar air (AOAC, 2006)
2. Protein (AOAC, 2006)
3. *Pasting properties* (Rapid Visco Analyzer) (Booth *et al.*,)
4. Kadar Tanin (Vanilin-HCl) (Price *et al.*, 1987 dalam Osman 2004)
5. Kadar Fitat (Makower *et al.*, 1970)
6. Daya cerna protein (Mertz *et al.*, 1984)
7. Kelarutan (Collado *et al.*, 2001)
8. Daya serap air (Kadan *et al.*, 2003)
9. Daya kembang (Collado *et al.*, 2001)

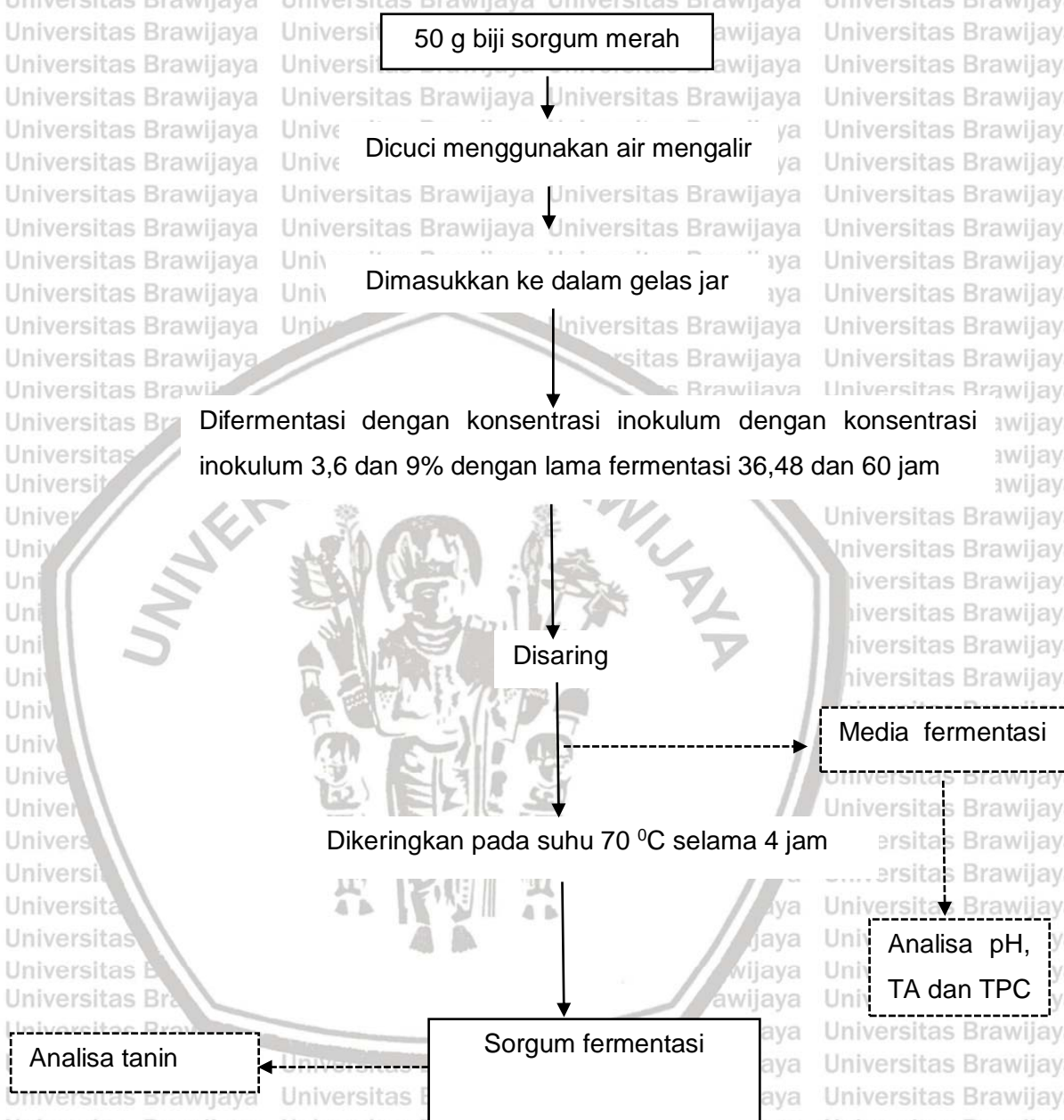
#### 4.6 Analisa statistik

Analisa data dilakukan menggunakan *software* Design Expert 11 dengan rancangan CCD, analisa data yang dilakukan diantaranya pemilihan model, hasil ANOVA, Persamaan prediksi untuk setiap respon, *Response surface plots*, Kurva persebaran data dan proses optimal fermentasi. Hasil dari oleh data menggunakan Design Expert 11 akan diperoleh solusi yang akan dipilih berdasarkan nilai *desirability* yang mendekati angka 1. Hasil akhir proses optimasi akan dilakukan verifikasi menggunakan *Software Minitab 17 Paired T-test* untuk perbandingan proses optimum hasil prediksi pada respon tanin, fitat dan daya cerna protein Analisa statistik pada karakterisasi hasil optimasi menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan uji lanjut menggunakan DMRT selang kepercayaan 95%.



## 4.7 Diagram Alir penelitian

### 4.7.1 Penelitian pendahuluan

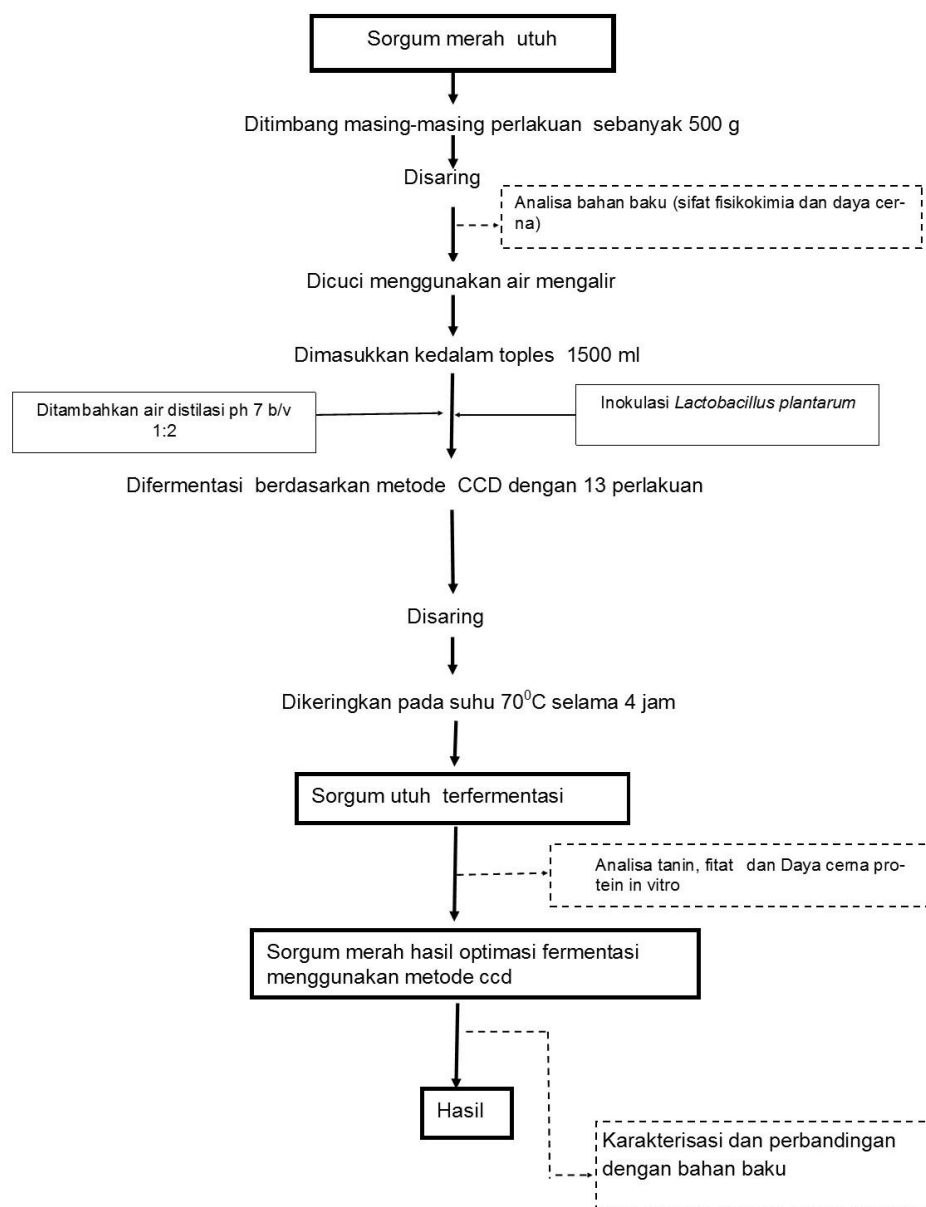


**Gambar 4.1 Diagram alir penelitian pendahuluan fermentasi biji sorgum merah utuh**



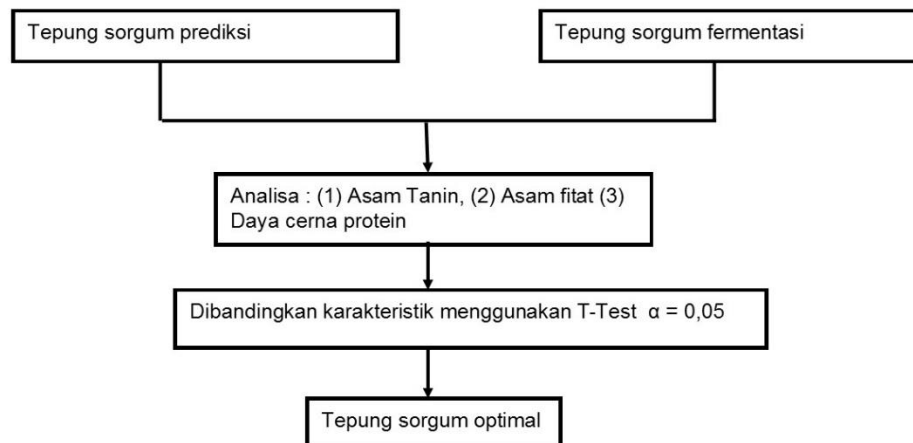
## 4.7.2 Diagram alir penelitian utama

### 4.7.2.1 Diagram alir optimasi fermentasi



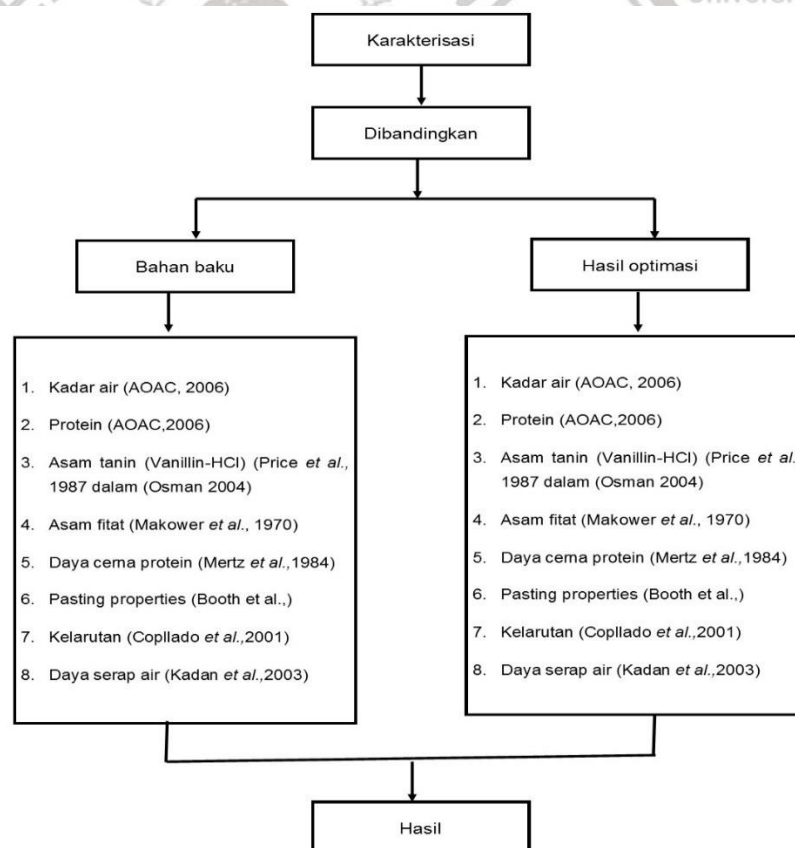
**Gambar 4.2 Skema fermentasi biji sorgum merah utuh (Modifikasi Kurniadi et al, 2019)**

#### 4.7.2.2 Verifikasi tepung sorgum hasil optimasi



Gambar 4.3 Skema verifikasi tepung sorgum hasil optimasi

#### 4.7.2.3 Karakterisasi dan perbandingan sorgum bahan baku dan hasil optimasi fermentasi

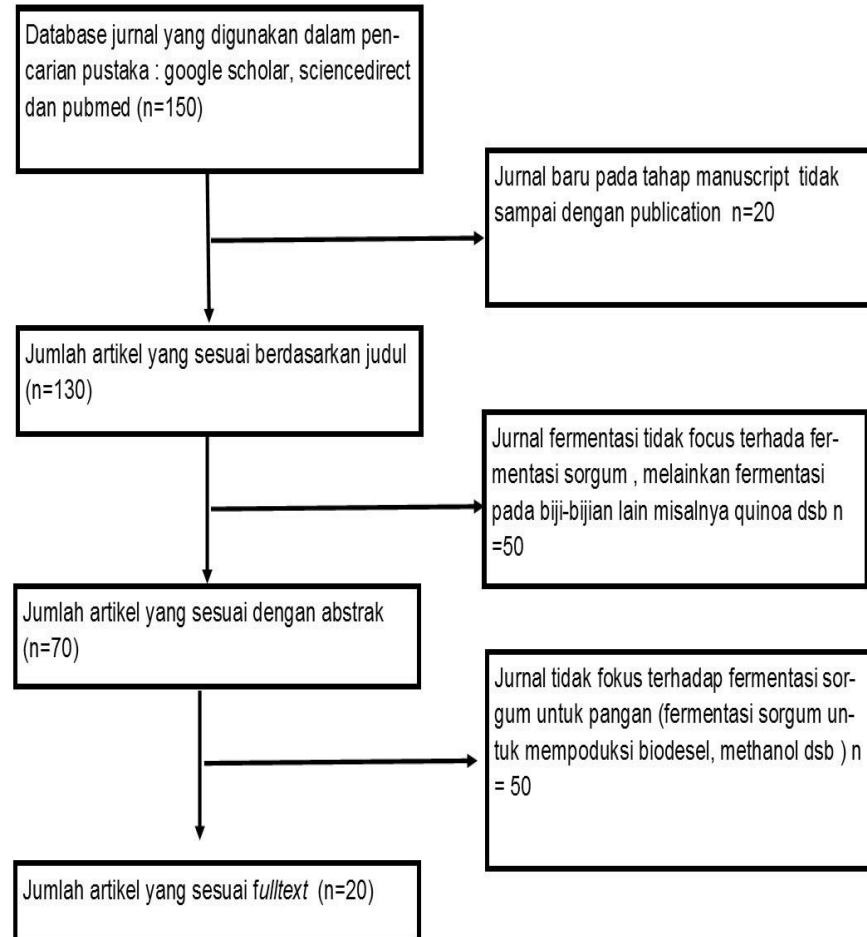


Gambar 4.4 Skema karakterisasi dan perbandingan sorgum bahan baku dan hasil optimasi fermentasi



#### 4.7.3 Diagram alir literature review

##### 4.7.3.1 Diagram alir tahapan penelitian literature review



**Gambar 4.5 Diagram alir tahapan penelitian literature review fermentasi sorgum**

**Tabel 4.7** Jurnal senyawa bioaktif pada biji sorgum fermentasi dan non fermentasi

No.	Judul	Tahun	Penulis
1	Evaluation of phenolics and antioxidant activity of black sorghum Hybrids	2013	Dykes et al.,
2	Comparing Sorghum and Wheat Whole Grain Breakfast Cereals : Sensorial Acceptance and Bioactive Compound Conten	2017	Cristine et al
3	Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum [ <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench] grains	2020	Punia et al
4	Fermentation and sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron	2006	Towo et al
5	Changes in extractable phenolic profile during natural fermentation of wheat, sorghum and teff	2021	Ravinskar et al
6	Effect of Fermentation on the Nutritive Value of Maize	2012	Cui et al
7	Phytic Acid Inhibits Lipid Peroxidation in Vitro	2013	Zajdel et al
8	Optimization of fermentation conditions for <i>ting</i> production using response surface methodology	2017	Adebo et al
9	Co-influence of fermentation time and temperature on physicochemical properties, bioactive components and microstructure of ting (a Southern African food) from whole grain sorghum	2018	Adebo et al



- 10 Differential metabolic signature in naturally and lactic acid bacteria fermented ting with different tannin content, as chromatography mass spectrometry (GC-MS) based metabolomics 2019 Adebo *et al.*
- 12 Changes in phenolic content, antioxidant activity and volatile compounds during processing of fermented sorghum grain tea 2019 Sun *et al.*
- 13 Malting and Fermentation Effects on Antinutritional Components and Functional Characteristics of Sorghum Flour 2018 Ojha *et al.*
- 14 Influence of Sourdough Fermentation on Amino Acids Composition, Phenolic Profile, and Antioxidant Properties of Sorghum Biscuits 2018 Sade omoba *et al.*
- 15 Effect of Fermentation and Processing of Sorghum Bicolor Grains to Produce Traditional Sudanese Hulu-Mur on Phytochemicals and Their Biological Activities 2020 Salma A Salih *et al.*
- 16 Influence of Sourdough Fermentation on Amino Acids Composition, Phenolic Profile, and Antioxidant Properties of Sorghum Biscuits 2018 Omoba *et al.*
- 17 Gastrointestinal and colonic in vitro bioaccessibility of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) and phenolic compounds from novel fermented sorghum food 2020 Garzon *et al.*
- 18 Effect of Starter Cultures on the Anti-Nutrient Contents, Minerals and Viscosity of Ogwo, a Fermented Sorghum-Irish Potato Gruel. 2015 Adegbehingbe
- 19 Nutritional value, protein quality and antioxidant activity of Sudanese sorghum-based kissra bread fortified with bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*) seed flour 2019 Abdulrahman.

20 Influence of Yeasts on Bioactive Compounds  
Content of Traditional Sorghum Beer (Tchapalo) Produced in Côte d'Ivoire 2020

Coulibaly et al.





## BAB V

### HASIL dan PEMBAHASAN

#### 5.1 Optimasi Fermentasi

Optimasi fermentasi sorgum merah pada penelitian ini menggunakan faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi dengan respon yang diamati adalah tanin, fitat dan daya cerna protein dengan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Respon yang dihasilkan dapat dilihat pada **Tabel 5.1**. Rincian perhitungannya disajikan pada Lampiran 6.1.

**Tabel 5.1** Rancangan percobaan CCD variabel kondisi fermentasi biji sorgum untuk optimasi kadar tanin, fitat dan daya cerna protein biji sorgum

Run	Konsentrasi inokulum (%)	Lama fermentasi (jam)	Tanin (mg/100g bk)	Fitat (mg/100g bk)	Daya cerna protein (%bk)
1	3	60	103,50	81,65	36,32
2	1.75	48	102,97	40,65	31,49
3	6	48	68,49	35,93	53,38
4	6	48	73,78	35,40	53,38
5	9	36	97,20	49,31	45,71
6	6	48	75,07	27,16	51,02
7	9	60	65,27	27,16	54,69
8	6	31	101,51	43,16	39,86
9	6	65	70,92	28,83	52,07
10	3	36	97,09	54,22	42,18
11	6	48	71,26	36,51	50,83
12	10,25	48	67,43	70,76	54,05
13	6	48	76,47	12,02	47,65

Pada **Tabel 5.1** dapat diketahui bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum mampu menurunkan konsentrasi asam tanin dan asam fitat serta meningkatkan daya cerna protein. Respon asam tanin memiliki hasil analisa maksimum ke minimum antara 65,27 hingga 103,50 mg/100g bk. Respon asam fitat memiliki hasil analisa maksimum ke minimum 27,16 hingga 81,65 mg/100g bk sedangkan, respon daya cerna protein memiliki hasil analisa maksimum ke minimum antara 31,49 hingga 54,69 %. Pada hasil dari ketiga respon memiliki nilai



rasio data respon kurang dari 10 sehingga tidak diperlukan transformasi data  
**Lampiran 6 .**

### 5.2.1 Pemodelan kondisi fermentasi untuk penurunan tanin biji sorgum

**Tabel 5.2** Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadratik dan analisis keragaman hasil percobaan kadar tanin biji sorgum hasil fermentasi

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Standard eror	derajat bebas	kuadrat tengah	F hitung	P value
Model	73,01	2,25	1	2708,74	21,40	0,0004***
intercept						
Linear						
$X_1$	-8,60	1,78	1	591,35	23,36	0,0019**
$X_2$	-11,52	1,78	1	1062,59	41,98	0,0003***
Kuadratik						
$X_1^2$	8,03	1,91	1	448,97	17,74	0,0040*
$X_2^2$	6,85	1,91	1	326,52	12,90	0,0088*
interaction						
$X_1 X_2$	-9,58	2,52	1	367,49	14,52	0,0066*
lack of fit			3	136,90	4,53	0,0893
Pure error			4	40,30		
Residual			7	177,20		
$R^2$				0,9386		
Adjusted $R^2$				0,8947		
CV%				6,12		
Corr total			20			

\*beda nyata  $p < 0,05$ ; \*\* beda nyata  $< 0,01$ ; \*\*\* beda nyata 0,001

Hasil analisa ANOVA, model polinomial kuadratik, dan koefisien regresi respon tanin dapat dilihat pada **Tabel 5.2** rincian perhitungannya disajikan pada **Lampiran 7.2**. Tujuan dari optimasi fermentasi biji sorgum adalah untuk mendapatkan lama fermentasi dan jumlah konsentrasi inokulum yang optimal untuk menurunkan konsentrasi tanin. Berdasarkan hasil analisa ANOVA pada respon tanin menggunakan 2 faktor yaitu lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) dengan hasil sebagai berikut, model kuadratik, Faktor lama fermentasi ( $X_1$ ), Konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) serta, interaksi antara lama fermentasi dan Konsentrasi inokulum ( $X_1 X_2$ ) memiliki  $p$  value  $< 0,05$  yang menunjukkan bahwa model dan faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi asam tanin. Tanin merupakan salah satu antinutrisi pada biji sorgum yang menyebabkan rasa pahit dan berpasir (Schons et al., 2012). Berdasarkan penelitian dari (Tapiwa, 2019) bahwa, tanin mampu menurunkan kandungan protein, menurunkan kelarutan protein, menurunkan daya cerna protein dan menghambat kerja enzim protease, sehingga bioavailabilitas



protein pada sorgum menjadi rendah. Fermentasi mampu mengurangi rasa pahit yang diakibatkan oleh senyawa tanin pada sorgum dan memperbaiki tekstur tepung sorgum seperti mengurangi rasa berpasir dan sifat amilografi (Schons *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian dari (Kurniadi *et al.*, 2019) menyatakan bahwa, fermentasi tepung sorgum selama 30 jam dengan konsentrasi inokulum 6% mampu menurunkan konsentrasi tanin paling maksimal pada sorgum, hal ini disebabkan karena semakin lama fermentasi berlangsung maka waktu kontak antara enzim tanase dengan biji sorgum akan semakin lama sehingga kandungan tanin pada sorgum akan menurun. (Abdelhaleem *et al.* 2008) menjelaskan bahwa, fermentasi tepung sorgum selama 16 jam mampu menurunkan konsentrasi tanin dari 0,55% hingga 0,18%. (Feyera 2021) menyatakan bahwa fermentasi menggunakan BAL dalam berbagai konsentrasi inokulum merupakan salah satu teknik pengolahan yang mampu menurunkan konsentrasi tanin pada bahan pangan. Menurut (Jiménez *et al.*, 2014) hal tersebut dikarenakan *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghasilkan enzim tanase yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisa ikatan *galol ester* pada tanin, sehingga tanin terhidrolisis menjadi asam galat dan glukosa.. Faktor kedua yaitu konsentrasi inokulum *lactobacillus plantarum* merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan tanase untuk menghidrolisis tanin. Pada konsentrasi *lactobacillus plantarum*  $5 \times 10^{-3}$  cfu/g akan menghasilkan enzim tanase yang mampu menurunkan konsentrasi tanin pada sorgum (Delgadillo *et al.*, 2005).

*Lack of fit* pada respon tanin memiliki nilai *p value* 0,1095 atau *p value* > 0,05 yang dapat diartikan bahwa *lack of fit* tidak berbeda nyata terhadap penurunan konsentrasi tanin. Menurut (Ridlo *et al.*, 2019) bahwa, nilai dari *Lack of fit* digunakan untuk menentukan model optimasi. *Lack of fit* dengan nilai *p value* > 0,05 dapat diartikan bahwa model tersebut sesuai untuk digunakan pada proses optimasi (Rheem *et al.*, 2017). Persamaan prediksi kadar tanin biji sorgum hasil fermentasi dengan memperhatikan faktor fermentasi yang berbeda nyata dirumuskan sebagai berikut:

$$Y_{\text{tanin}} = 209,71 - 4,47 X_1 - 0,19 X_2 - 0,26 X_1 X_2 + 0,055 X_1^2 + 0,76 X_2^2, \dots (1)$$

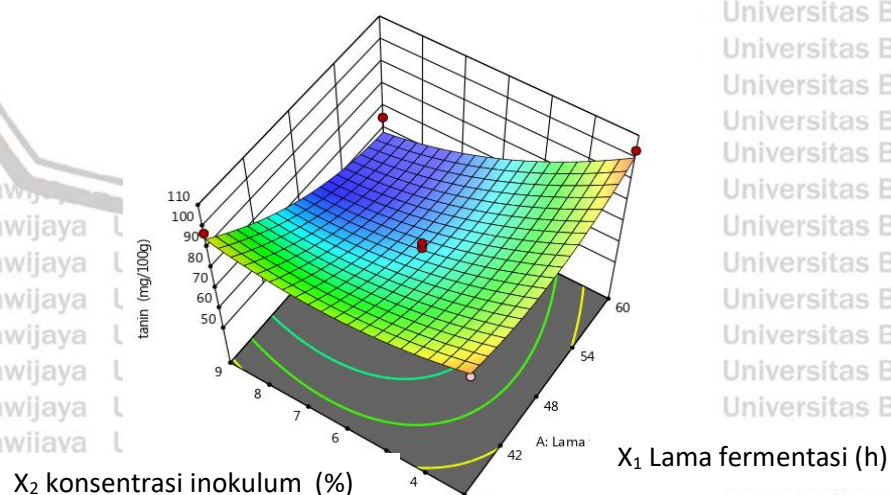
Deskripsi :  $X_1$  = lama fermentasi  $X_2$  = konsentrasi inokulum

Pada model matematis dapat diketahui bahwa lama fermentasi ( $X_1$ ), konsentrasi inokulum ( $X_2$ ), kombinasi antara lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi



inokulum ( $X_2$ ) menghasilkan nilai konstanta negatif, yang artinya faktor-faktor tersebut berpengaruh terhadap penurunan tanin (Nurmiah *et al.*, 2013). lama fermentasi ( $X_1$ ) memiliki nilai konstanta -4,47, konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) memiliki nilai konstanta -0,26 dan kombinasi antara lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) menghasilkan nilai konstanta -0,26. Konstanta negatif menunjukkan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap penurunan tanin. (Rahman and Osman 2011) menjelaskan bahwa, fermentasi sorgum varietas lokal selama 24 jam secara spontan mampu mereduksi tanin hingga 56,9%. Lama fermentasi akan berpengaruh terhadap lama waktu yang akan digunakan untuk sorgum kontak dengan enzim tanase sedangkan, konsentrasi inokulum akan berpengaruh terhadap jumlah mikroorganisme yang akan menghasilkan enzim tanase. fungsi dari enzim tanase adalah memutuskan ikatan galoil ester pada tanin untuk menghasilkan asam galat dan glukosa, tetapi tidak dapat mengkatalis reaksi pemutusan heksa hidroksi fenil. Selain itu, tanase juga memiliki kemampuan mengkatalis reaksi hidrolisis tanin terkondensasi untuk menghasilkan senyawa flavonoid (Osawa *et al.* 2000) .

Pada hasil analisa dapat diketahui bahwa nilai CV respon tanin adalah 6,12 atau CV >5% sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang digunakan pada analisa memiliki tingkat akurasi dan presisi yang rendah (Almusallam *et al.*, 2021).  $R^2$  dan  $Adjusted R^2$  pada hasil analisa mendekati angka 1 dapat diartikan bahwa nilai analisa yang diprediksi oleh *software* dan hasil analisa memiliki korelasi yang tinggi (Almusallam *et al.*, 2021) .

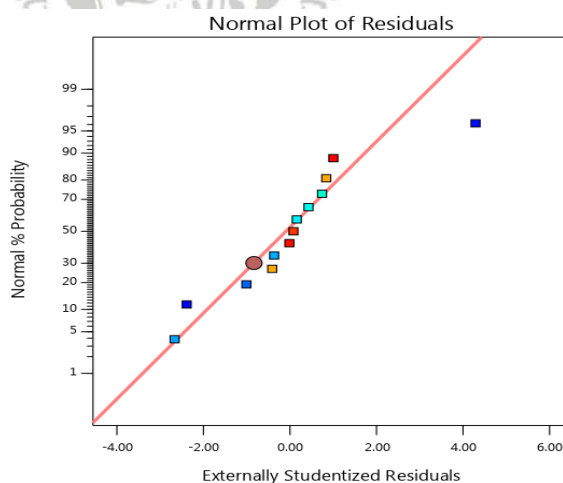


**Gambar 5.1** Response surface plots untuk respon tanin (mg/100g) dengan dua faktor yaitu  $X_1$  Lama fermentasi (h) dan  $X_2$  konsentrasi inokulum (%)



Pada **Gambar 5.1** dapat dilihat bahwa, *Response surface plots* yang dihasilkan pada analisa ANOVA membentuk respon minimum yaitu dari atas kebawah yang menunjukkan lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap penurunan konsentrasi tanin penurunan kadar tanin paling optimal terjadi pada konsentrasi inokulum 9% dengan lama fermentasi 60 jam kadar tanin 65,27 mg/100g bk . Interaksi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap penurunan kadar tanin pada biji sorgum. Pada proses fermentasi terjadi penurunan tanin hingga 64%.

Pengaruh konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap respon tanin berdasarkan warna dari *response surface plots* . Hasil 3d *response surface plots* menunjukkan hasil bahwa terdapat tiga gradasi warna yaitu biru, hijau, dan merah, dimana warna tersebut mempresentasikan nilai konsentrasi tanin pada sampel. Warna merah menunjukkan nilai paling tinggi konsentrasi tanin pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 103,5 mg/100g bk sedangkan warna biru menunjukkan nilai paling rendah nilai konsentrasi tanin pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 65,3 mg/100g bk. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai konsentrasi tanin pada sampel semakin mendekati angka biru diperoleh nilai konsentrasi semakin rendah sebaliknya, apabila nilai konsentrasi tanin semakin mendekati warna merah maka semakin tinggi.



**Gambar 5.2** Persebaran data fermentasi sorgum dengan dua faktor yaitu lama fermentasi dan konsentrasi inokulum terhadap respon tanin.

**Gambar 5.2** menunjukkan gambar persebaran data hasil penelitian yang mengikuti garis berwarna merah (garis kenormalan), yang dapat diartikan bahwa persebaran data yang terjadi adalah normal. Warna point yang mengikuti dari garis



merah mempresentasikan nilai dari konsentrasi tanin pada sampel warna biru menunjukkan konsentrasi tanin pada sampel paling rendah sedangkan warna merah menunjukkan konsentrasi tanin paling tinggi.

## 5.2.2 Pemodelan dan analisis respon Fitat

**Tabel 5.3** Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadrat dan analisis keragaman hasil percobaan kadar fitat biji sorgum hasil fermentasi

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Standard error	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F hitung	P value
<i>Model</i>	29,40	7,41	1	230,05	1,68	0,2572
<i>intercept</i>						
<i>Linear</i>						
$X_1$	-1,87	5,86	1	28,07	0,1022	0,7585
$X_2$	-2,10	5,86	1	35,36	0,1287	0,7303
<i>Kuadrat</i>						
$X_1^2$	5,10	6,28	1	181,24	0,6599	0,4433
$X_2^2$	14,96	6,28	1	1556,72	5,67	0,0448*
<i>interaction</i>						
$X_1 X_2$	-12,40	8,29	1	615,54	2,24	0,1784
<i>lack of fit</i>			3	1486,30	4,54	0,0889
<i>Pure error</i>			4	109,07		
<i>Residual</i>			7	1922,58		
$R^2$				0,5452		
<i>Adjusted</i>				0,2204		
$R^2$						
CV%				39,69		
<i>Corr total</i>			20	4277,63		

Hasil analisa ANOVA, model polynomial kuadrat, dan koefisien regresi respon fitat dapat dilihat pada **Tabel 5.3** rincian perhitungannya disajikan pada **Lampiran 7.3**. *P value* pada respon fitat sebesar 0,2572 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang digunakan tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan fitat pada sorgum fermentasi. Faktor lama fermentasi ( $X_1$ ), konsentrasi inokulum ( $X_2$ ), lama fermentasi kuadrat ( $X_1^2$ ) dan interaksi antara faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dengan konsentrasi inokulum ( $X_1 X_2$ ) tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan fitat pada sorgum fermentasi dikarenakan memiliki *p value*  $> 0,05$ . Faktor konsentrasi inokulum kuadrat memiliki *p value*  $> 0,05$  yaitu 0,044, sehingga dapat disimpulkan bahwa hanya faktor konsentrasi inokulum kuadrat yang berpengaruh nyata terhadap penurunan fitat pada sorgum fermentasi. Faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi asam fitat. Asam fitat merupakan *myoinositol 1,2,3,4,5,6- hexakis dihydrogen phosphate*, dimana fitat terdiri dari enam rantai samping yang mengandung fosfat (Kishor Gupta, 2012). Fitat dan protein akan



berinteraksi membentuk kompleks, rekasi tersebut menyebabkan perubahan struktur protein yang dapat menurunkan aktivitas enzim, kelarutan protein, dan daya cerna protein. Fitat bersifat *water soluble* sehingga metode yang dapat digunakan untuk menurunkan konsentrasi fitat pada biji sorgum diantaranya adalah perendaman, fermentasi, dan perkecambahan. Fermentasi sorghum dengan BAL juga diketahui dapat mengurangi anti-nutrien, seperti fitat (Elkhalifa *et al.*, 2007). Pada proses fermentasi BAL akan menghasilkan fitase yang dapat mendegradasi asam fitat.

Fitase (*myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase*) yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis dari asam fitat (*myo-inositol hexakisphosphate*) menjadi monofosfat inorganik serta myo-inositol rendah dan beberapa menjadi myo-inositol bebas (Bohn *et al.*, 2008). Pada proses fermentasi BAL tidak hanya memproduksi fitase namun juga memproduksi asam-asam organik yang menyebabkan terhambatnya enzim fitase dalam menghidrolisis asam fitat (Ojha *et al.* 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Sajidan, 2011) bahwa suhu inkubasi dapat mempengaruhi kinerja dari enzim fitase, suhu optimal enzim fitase yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada kisaran 35 sampai 65 °C, sedangkan pada proses fermentasi sorgum dilakukan pada suhu ruang 27-30 °C yang dapat menyebabkan energi aktivasi enzim fitase menjadi berkurang. pada suhu tersebut gerakan molekul enzim akan meningkat, sehingga akan meningkatkan energi aktivasi enzim fitase untuk menghidrolisis asam fitat. Faktor lain yang menyebabkan faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum adalah hasil analisa yang memiliki tingkat presisi dan akurasi yang rendah hal ini dibuktikan dengan nilai  $CV > 0,05$ .  $R^2$ ,  $Adjusted R^2$ , dan  $Predicted R^2$  pada hasil analisa tidak mendekati angka 1 yang dapat diartikan bahwa nilai analisa yang diprediksi oleh *software* dan hasil analisa memiliki korelasi yang rendah (Almusallam *et al.*, 2021)

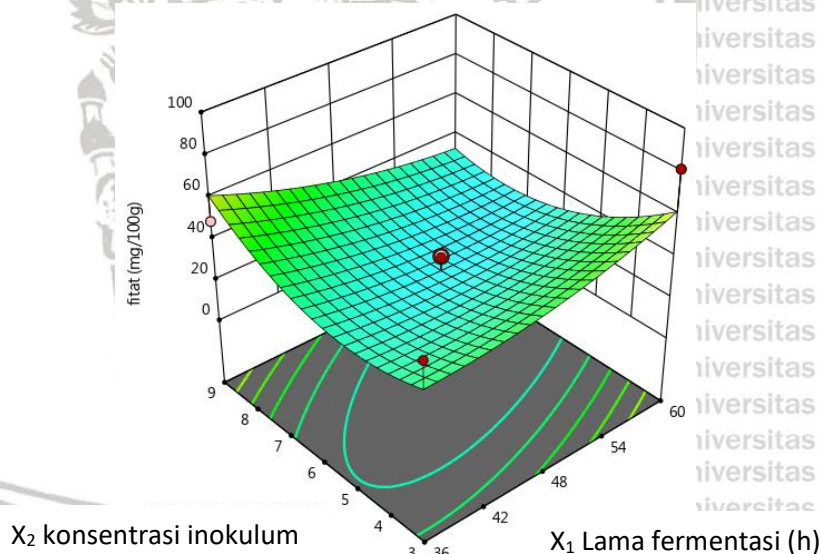
*Lack of fit* memiliki nilai  $p\text{ value} > 0,005$  menurut (Ramadhani *et al.*, 2017) *lack of fit* lebih dari 0,005 atau tidak berbeda nyata merupakan syarat untuk model yang baik karena menunjukkan adanya kesesuaian antara respon dan model. Persamaan prediksi kadar fitat biji sorgum hasil fermentasi dengan memperhatikan faktor fermentasi yang berbeda nyata dirumuskan sebagai berikut:

$$Y_{\text{fitat}} = 1,66 X_2^2 \dots \dots \dots (2)$$

**Deskripsi :  $X_2$  konsentrasi inokulum**



Pada model matematis dapat diketahui bahwa konsentrasi inokulum ( $X_2^2$ ) menunjukkan nilai konstanta yaitu 1,66. Berdasarkan penelitian dari (Abdelhaleem *et al.*, 2008), bahwa dengan menggunakan kombinasi lama fermentasi 16 jam dengan konsentrasi inokulum 6% mampu menurunkan senyawa tanin dari 0,21% menjadi 0,073% pada sorgum. Model matematis dapat digunakan untuk mengetahui proporsi kombinasi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum terhadap penurunan fitat pada biji sorgum. Nilai konstanta positif menunjukkan bahwa proporsi lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) berbanding terbalik dengan penurunan kadar fitat, sedangkan konstanta negatif menunjukkan bahwa proporsi lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) berbanding lurus dengan respon penurunan fitat (Nurmiah *et al.*, 2013). Kesimpulan pada hasil ANOVA untuk fitat, model, lama fermentasi ( $X_1$ ), konsentrasi inokulum ( $X_2$ ), lama fermentasi kuadrat ( $X_1^2$ ), konsentrasi inokulum kuadrat ( $X_2^2$ ), *lack of fit* memiliki pengaruh yang tidak nyata terhadap penurunan fitat.

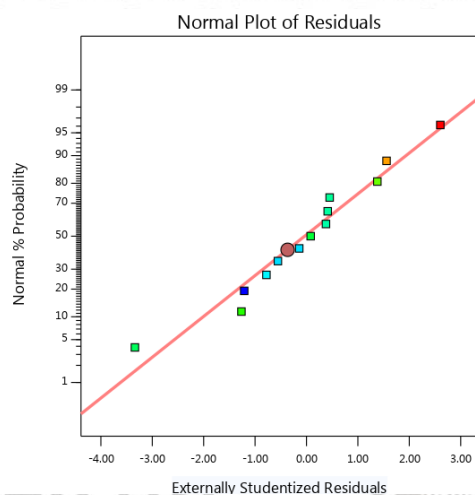


**Gambar 5.3** Response surface plots untuk respon fitat (mg/100g) dengan dua faktor yaitu  $X_1$  Lama fermentasi (h) dan  $X_2$  konsentrasi inokulum (%)

**Gambar 5.3** menunjukkan Response surface plots membentuk kurva minimum yang artinya faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum mampu menurunkan asam fitat pada biji sorgum. Hasil optimum penurunan kadar fitat pada sorgum fermentasi terjadi pada lama fermentasi 60 jam dan konsentrasi inokulum 9% dengan kadar asam fitat 81,65 mg/100g bk. Berdasarkan penelitian



dari (Kruger et al., 2012) bahwa fermentasi tepung sorgum lokal menggunakan BAL selama 48 jam dengan suhu 25 °C mampu menurunkan kadar fitat sebesar 72%.



**Gambar 5.4** Persebaran data fermentasi sorgum dengan dua faktor yaitu lama fermentasi dan konsentrasi inokulum terhadap respon fitat.

Pengaruh konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap respon fitat berdasarkan warna dari *response surface plots*. Pada grafik 3d *response surface plots* dapat diketahui bahwa terdapat dua gradasi warna yaitu hijau, dan biru muda, dimana warna tersebut mempresentasikan nilai konsentrasi fitat pada sampel. Warna hijau menunjukkan nilai paling tinggi konsentrasi fitat pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 81,65 mg/100g bk sedangkan warna biru muda menunjukkan nilai paling rendah nilai konsentrasi fitat pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 12,02. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai konsentrasi fitat pada sampel semakin mendekati angka biru muda diperoleh nilai konsentrasi semakin rendah sebaliknya, apabila nilai konsentrasi tanin semakin mendekati warna hijau maka semakin tinggi. **Gambar 5.4** menunjukkan gambar persebaran data hasil penelitian yang mengikuti garis berwarna merah, yang dapat diartikan bahwa persebaran data yang terjadi adalah normal. Warna point yang mengikuti dari garis merah mempresentasikan nilai dari konsentrasi fitat pada sampel warna biru menunjukkan konsentrasi fitat pada sampel paling rendah sedangkan warna merah menunjukkan konsentrasi tanin paling tinggi.

### 5.2.3 Pemodelan kondisi fermentasi untuk peningkatan daya cerna protein secara In Vitro

**Tabel 5.4** Perkiraan koefisien regresi untuk model polinomial kuadratik dan analisis keragaman hasil percobaan daya cerna protein sorgum hasil fermentasi

Sumber keragaman	jumlah kuadrat	Standard error	derajat bebas	kuadrat tengah	F hitung	P value
Model	51,25	1,31	1	617,45	14,40	0,0014**
intercept						
Linear						
$X_1$	2,55	1,04	1	51,96	6,06	0,0434*
$X_2$	6,73	1,04	1	361,87	42,18	0,0003***
Quadratik						
$X_1^2$	-2,55	1,11	1	45,38	5,29	0,0550*
$X_2^2$	-4,15	1,11	1	119,90	13,98	0,0073**
interaction						
$X_1 X_2$	3,71	1,46	1	55,06	6,42	0,0390*
lack of fit			3	37,79	2,26	0,2232
Pure error			4	22,26		
Residual			7	60,05		
$R^2$				0,9114		
Adjusted $R^2$				0,8481		
CV%				6,22		
Corr total			20			

beda nyata \* $p < 0,05$ ; \*\* beda nyata  $< 0,01$ ; \*\*\* beda nyata 0,001

Hasil analisa ANOVA, model polinomial kuadratik, dan koefisien regresi respon daya cerna protein dapat dilihat pada **Tabel 5.4** rincian perhitungannya disajikan pada **Lampiran 7.4**. *P value* model pada respon daya cerna protein secara in vitro sebesar 0,0014 (*p value*  $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang digunakan berpengaruh nyata terhadap peningkatan daya cerna protein pada sorgum fermentasi. Faktor lama fermentasi ( $X_1$ ), konsentrasi inokulum ( $X_2$ ), lama fermentasi kuadrat ( $X_1^2$ ), konsentrasi inokulum kuadrat ( $X_2^2$ ) dan interaksi antara ( $X_1 X_2$ ) memiliki *p value*  $< 0,05$  yang dapat diartikan bahwa faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata terhadap peningkatan daya cerna protein pada sorgum fermentasi. Sorgum merupakan salah satu sumber protein yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, namun memiliki daya cerna protein yang rendah hal ini dikarenakan adanya senyawa antinutrisi seperti tanin dan fitat. Fitat dan tanin adakan berinteraksi dengan protein membentuk senyawa yang kompleks sehingga menyebabkan perubahan struktur protein yang dapat menurunkan aktivitas enzim, kelarutan protein, dan daya cerna protein (Bohn *et al.*, 2008). Berdasarkan penelitian dari



(Towo *et al.*, 2006) bahwa interaksi antara tanin dan fitat dapat membentuk ikatan hidrogen, ikatan kovalen dan ikatan hidrofobik sehingga tidak dapat dicerna pada saluran pencernaan. Fermentasi akan menghasilkan enzim tanase yang berfungsi untuk memutuskan ikatan galoil pada tanin dan menghasilkan asam galat dan glukosa (Osawa *et al.* 2000) dan fitase yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis dari asam fitat (*myo-inositol hexakisphosphate*) menjadi monofosfat inorganik dan beberapa menjadi myo-inositol bebas (Bohn *et al.*, 2008). Pada hasil analisa dapat diketahui bahwa peningkatan daya cerna protein paling maksimal terjadi pada konsentrasi inokulum 9% dengan lama fermentasi 60 jam dengan nilai daya cerna protein 54,69%. Berdasarkan penelitian dari (Pranoto *et al.*, 2013) bahwa fermentasi mampu meningkatkan daya cerna protein.

*Lack of fit* pada optimasi daya cerna protei memiliki *p value* >0,05 atau tidak berpengaruh nyata terhadap respon daya cerna protein. Berdasarkan penelitian dari bahwa, *lack of fit* yang tidak signifikan mengimplikasikan model yang digunakan cukup baik sehingga sesuai dengan yang diharapkan. *Coofficient of variation* (CV) <5% yang artinya bahwa model tersebut memiliki tingkat presisi dan akurasi yang tinggi (Almusallam *et al.* 2021).  $R^2$  dan *Adjusted R<sup>2</sup>* mendekati angka 1 yang dapat diartikan bahwa nilai analisa yang diprediksi oleh *software* dan hasil analisa memiliki korelasi yang tinggi (Almusallam *et al.*, 2021). Persamaan prediksi kadar daya cerna protein biji sorgum hasil fermentasi dengan memperhatikan faktor fermentasi yang berbeda nyata dirumuskan sebagai berikut:

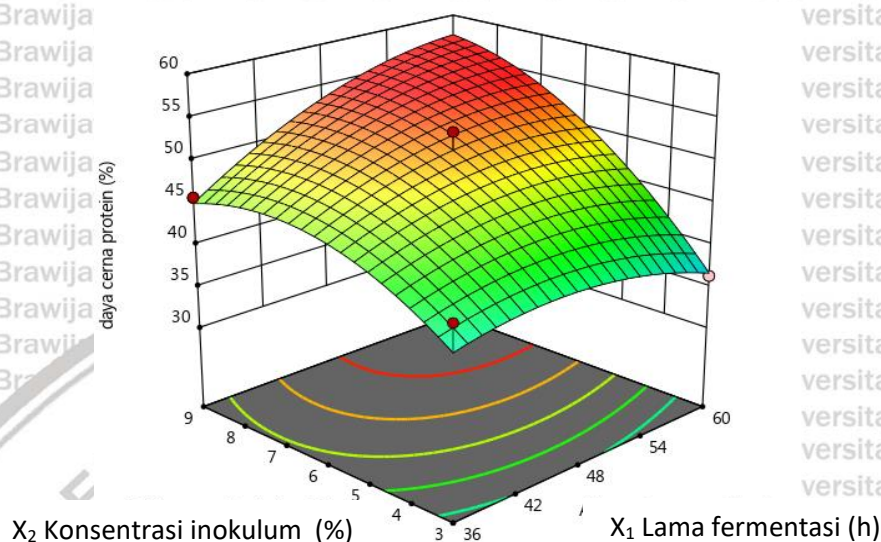
$$Y_{\text{daya cerna protein}} = -0,18 + 1,29 X_1 + 2,83 X_2 + 0,10X_1 X_2 - 0,017X_1^2 - 0,46X_2^2 \dots\dots\dots(3)$$

Deskripsi :  $X_1$ = lama fermentasi  $X_2$ = konsentrasi inokulum

Pada model matematis dapat diketahui bahwa  $X_1$ ,  $X_2$  dan nteraksi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum ( $X_1 X_2$ ) menunjukkan nilai positif sehingga dapat diartikan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap kenaikan peningkatan daya cerna protein secara *in vitro*. Berdasarkan penelitian dari (Abdelhaleem *et al.*, 2008) bahwa, fermentasi selama 16 jam mampu meningkatkan daya cerna protein dari 12 menjadi 16 %. Berdasarkan penelitian dari (Kurniadi *et al.*, 2019) bahwa semakin lama



fermentasi dan semakin tinggi konsentrasi inokulum maka peningkatan daya cerna protein semakin maksimal.



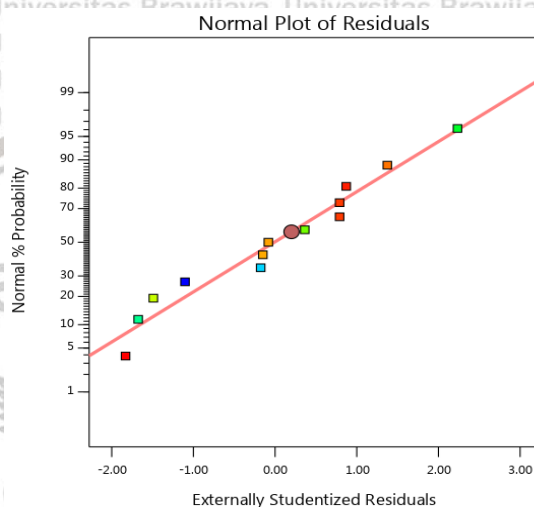
**Gambar 5.5** Response surface plots untuk respon daya cerna protein (%) dengan dua faktor yaitu  $X_1$  Lama fermentasi (h) dan  $X_2$  konsentrasi inokulum (%)

Pada **Gambar 5.5** dapat diketahui bahwa Response surface plots membentuk kurva maksimal yaitu dari turun ke naik. Sehingga lama fermentasi dan konsentrasi inokulum yang optimal mampu meningkatkan daya cerna protein secara maksimal. Pengaruh faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) terhadap respon daya cerna protein adalah berpengaruh nyata  $p\text{ value} < 0,05$ . Pada lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ ) yang optimal mampu meningkatkan daya cerna protein secara maksimal. Pada konsentrasi inokulum 9% pada lama fermentasi 60 jam diperoleh nilai daya cerna protein paling optimal yaitu, sebesar 54,69%. Daya cerna protein meningkat sebesar 42,88% dari nilai daya cerna protein awal.

Pengaruh konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap respon daya cerna protein berdasarkan warna. Pada response surface plots dapat diketahui bahwa terdapat tiga gradasi warna yaitu biru, hijau, dan merah, dimana warna tersebut mempresentasikan nilai konsentrasi daya cerna protein secara in



vitro pada sampel. Warna merah menunjukkan nilai paling tinggi konsentrasi daya cerna protein pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 69,46 sedangkan warna biru menunjukkan nilai paling rendah nilai konsentrasi daya cerna protein secara in vitro pada sampel akibat dari perlakuan yaitu 53,82. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai konsentrasi daya cerna protein pada sampel semakin mendekati angka biru diperoleh nilai konsentrasi semakin rendah sebaliknya, apabila nilai konsentrasi daya cerna protein semakin mendekati warna merah maka semakin tinggi.



**Gambar 5.6** Persebaran data fermentasi sorgum dengan dua faktor yaitu lama fermentasi dan konsentrasi inokulum terhadap respon daya cerna protein.

**Gambar 5.6** menunjukkan gambar persebaran data hasil penelitian yang mengikuti garis berwarna merah, yang dapat diartikan bahwa persebaran data yang terjadi adalah normal. Warna point yang mengikuti dari garis merah mempresentasikan nilai dari konsentrasi tanin pada sampel warna biru menunjukkan konsentrasi tanin pada sampel paling rendah sedangkan warna merah menunjukkan konsentrasi tanin paling tinggi.

### 5.3 Penentuan Titik Optimum Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi

Titik optimum pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 5.6** dibawah ini, titik optimum diperoleh berdasarkan kombinasi antara konsentrasi inokulum dan lama fermentasi untuk menghasilkan nilai tanin dan daya cerna protein paling optimal. Data yang dimasukkan pada konsentrasi inokulum dan lama fermentasi adalah in range, sedangkan untuk konsentrasi tanin adalah minimal dan daya cerna protein adalah maksimal. Batas bawah pada konsentrasi inokulum adalah 3% dan



batas atas adalah 9%, sedangkan pada lama fermentasi batas bawah 36 jam dan batas atas 60 jam. Batas bawah dan batas atas dari konsentrasi inokulum dengan lama fermentasi diperoleh dari penelitian pendahuluan.

**Tabel 5.5** Solusi Titik Optimum Konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap Daya Cerna Protein, Fitat dan Tanin.

Konsentra si inokulum (%)	Lama fermenta si (h)	Tanin (mg/100gb k)	Fitat (mg/100gb k)	Daya Cerna Protei n (%)	Desirabilit y	Kete- Ranga n
7,8%	55,61	63	50	55,792	0,911	Selecte d

Titik optimum pada penelitian fermentasi sorgum dapat dilihat pada **Tabel**

**5.5.** Rincian perhitungan ditampilkan pada **Lampiran 8** Titik optimum untuk faktor konsentrasi inokulum yang diperoleh dari *Design expert* adalah 7,8%, lama fermentasi 55,61 jam sedangkan nilai untuk respon sebesar 63 mg/100g bk, fitat 50 mg/100g bk, dan daya cerna protein 55,792% dengan nilai desirability 0,911.

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh hasil yang optimal melalui kombinasi konsentrasi inokulum dan lama fermentasi yang tepat dengan mengacu pada nilai *desirability*. *Desirability* yang diperoleh dari *design expert* merupakan nilai fungsi yang bertujuan untuk optimasi dengan menunjukkan kemampuan program yang menghasilkan kriteria yang telah ditetapkan yaitu nilai konsentrasi tanin yang rendah dan nilai daya cerna protein yang tinggi. Semakin mendekati nilai 1 untuk *desirability* maka kemampuan program untuk mendekati hasil sesuai yang diinginkan semakin besar (Ramadhani *et al.*, 2017)

#### **5.4 Verifikasi Hasil Optimum Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi Terhadap Respon Daya Cerna Protein, Tanin dan Fitat**

Verifikasi hasil optimum faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi bertujuan untuk membandingkan hasil verifikasi dengan solusi titik optimum yang diperoleh dari *design expert*. Proses verifikasi dilakukan dengan fermentasi dengan prosentase konsentrasi inokulum dan lama fermentasi yang diperoleh dari *design expert* dan selanjutnya dilakukan analisa respon tanin, fitat dan daya cerna protein. Analisa dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dan dilakukan perhitungan untuk memperoleh nilai rata-rata dari hasil analisa. Hasil perhitungan dibandingkan dengan solusi titik optimum dari *Design expert* dan dianalisa menggunakan uji *Paired T-Test* menggunakan Minitab 17 dengan  $\alpha = 0,05$ . Nilai



$p$ -value uji *Paired T-Test* yang menghasilkan  $p$ -value  $> 0,05$  menunjukkan ketepatan hasil prediksi dengan hasil analisis. Hasil uji *Paired T-Test* dan verifikasi dapat dilihat pada **Lampiran 8** dan hasil verifikasi ditampilkan pada **Tabel 5.6**.

**Tabel 5.6** Kondisi optimum, validasi dari nilai prediksi dan nilai hasil eksperimen dengan kondisi yang sama

	faktor				Respon
	Lama fermentasi (jam)	Konsentrasi inokulum (%)	Tanin (mg/100g bk)	Fitat (mg/100g bk)	Daya cerna protein (%)
Prediksi	55,61	7,8	63	50	55,79
Verifikasi	55,61	7,8	56,33 $\pm$ 0,92	68,21 $\pm$ 19,65	51,52 $\pm$ 0,39
<i>P</i> - value			0,113	0,25	0,089

Hasil verifikasi optimasi fermentasi biji sorgum respon tanin fitat dan daya cerna protein dapat dilihat pada **Tabel 5.6** dengan hasil sebagai berikut

Perhitungan RSM untuk nilai tanin adalah 63 mg/100g bk dan nilai tanin hasil verifikasi sebesar 56,33 dengan  $p$  value 0,113 atau  $p$  value  $> 0,05$  yang artinya hasil verifikasi dan perkiraan perhitungan RSM tidak berbeda nyata atau sama.

Perhitungan RSM untuk nilai fitat adalah 50 mg/100g bk dan nilai tanin hasil verifikasi sebesar 68,21 dengan  $p$  value 0,25 atau  $p$  value  $> 0,05$  yang artinya hasil verifikasi dan perkiraan perhitungan RSM tidak berbeda nyata atau sama.

Daya cerna protein pada perhitungan RSM dengan nilai 55,79 sedangkan pada hasil verifikasi diperoleh nilai daya cerna protein sebesar 51,52% dengan  $p$  value 0,08 atau  $p$  value  $> 0,05$  yang artinya hasil verifikasi dan perkiraan perhitungan RSM tidak berbeda nyata atau sama.

### 5.5 Karakteristik tepung sorgum fermentasi

Hasil optimasi fermentasi sorgum merah dilakukan analisa lebih lanjut dengan tujuan untuk mengetahui karakteristik dari tepung sorgum fermentasi. Analisa yang dilakukan diantaranya Kadar air, protein, tanin terkondensasi, asam fitat, daya cerna protein, daya serap air, kelarutan dan daya kembang. Perhitungan pengulangan karakterisasi sorgum dan sorgum fermentasi dapat dilihat pada **Lampiran 10**. Hasil analisa karakteristik sorgum dan sorgum hasil optimasi ditunjukkan pada **Tabel 5.7**



**Tabel 5.7** Karakteristik tepung sorgum fermentasi

Parameter	Hasil analisa	
	Bahan baku	Optimasi
Kadar air %	8,82 ± 2,01 <sup>a</sup>	7,78 ± 0,6 <sup>a</sup>
Protein %	10,12±0,38 <sup>a</sup>	7,85 ± 0,11 <sup>b</sup>
Tanin terkondensasi mg/100g bk	179,88±0,07 <sup>a</sup>	56,33 ± 0,92 <sup>b</sup>
Asam fitat mg/100g bk	113,00±0,051 <sup>a</sup>	68,21 ± 19,65 <sup>a</sup>
Daya cerna protein %	11,81±0,01 <sup>a</sup>	51,52 ± 0,39 <sup>a</sup>
Daya serap air %	11,92 ± 0,03 <sup>a</sup>	12,9 ± 0,08 <sup>b</sup>
Kelarutan	33,45 ± 0,05 <sup>a</sup>	52,85 ± 0,05 <sup>b</sup>
Daya kembang (g/g)	7,28 ± 0,15 <sup>a</sup>	8,82 ± 0,18 <sup>b</sup>

Keterangan :1) Data (± standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

2) Angka yang didampingi notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata (α = 0,05)

### 5.5.1 Kadar air

Analisa kadar air bertujuan untuk mengetahui perbandingan kandungan air pada biji sorgum sebelum difermentasi dan biji sorgum hasil optimasi. Pada **Tabel 5.7** menunjukkan bahwa analisa bahan baku sorgum merah diantaranya kadar air, pada bahan baku nilai kadar air sebesar 8,82%. Perhitungan kadar air dengan cara proses penguapan air akibat pemanasan sehingga diperoleh berat yang konstan. Perhitungan kadar air menjadi penting dikarenakan air bebas pada bahan pangan akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk hidup. Pada hasil analisa dapat diketahui terjadi penurunan pada hasil optimasi menjadi 7,78%, namun penurunan kadar air tidak berbeda nyata atau *p value* > 0,05. Berdasarkan penelitian dari (Kurniadi et al. 2019) bahwa penurunan kadar air pada hasil optimasi fermentasi dikarenakan pada proses fermentasi BAL akan mendegradasi pati yang menyebabkan menurunnya daya ikat air. Pecahnya pati pada sorgum akibat fermentasi menyebabkan tekstur dari pati menjadi lebih lembut dan berpori. Kondisi tersebut menyebabkan meningkatnya evaporasi air selama proses pengeringan sehingga kadar air hasil optimasi mengalami penurunan.



### 5.5.3 Tanin terkondensasi

64



menurunkan konsentrasi asam tanin pada biji sorgum. Menurunnya konsentrasi tanin disebabkan oleh enzim tanase yang dihasilkan oleh BAL akan menhidrolisis tanin menjadi asam galat dan glukosa (Kurniadi et al. 2019)

#### 5.5.4 Asam fitat

Analisa asam fitat bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap kadar asam fitat dengan cara membandingkan kadar asam fitat pada bahan baku dengan kadar asam fitat pada sorgum hasil optimasi. Asam fitat pada bahan baku sorgum sebesar 113 mg/100g bk, asam fitat bersifat sebagai antinutrisi pada sorgum. Hal tersebut dikarenakan, fitat memiliki enam fosfat pada rantai sampingnya yang bersifat sebagai *chleator*, inhibitor enzim protease, dan membentuk ikatan yang kompleks dengan protein sehingga daya cerna protein menjadi turun (Abdelhaleem et al. 2008). Fermentasi mampu mendegradasi senyawa antinutrisi pada sorgum salah satunya adalah asam fitat. BAL memproduksi enzim fitase selama proses fermentasi yang dapat mendegradasi asam fitat menjadi fosfat bebas dan memutus ikatan antara protein dan fitat (Gemede, 2014). Fermentasi mampu menurunkan konsentrasi asam fitat menjadi 68,21 mg/100g bk. Penurunan asam fitat memiliki  $p$  value  $> 0,05$  yang artinya lama fermentasi dan kosentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan asam fitat, hal ini disebabkan asam laktat yang dihasilkan BAL pada proses fermentasi menghambat kerja fitase dalam mendegradasi fitat (Ojha et al. 2018)

#### 5.5.5 Daya cerna protein

Analisa daya cerna protein bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap kadar asam fitat dengan cara membandingkan daya cerna protein pada bahan baku dengan daya cerna protein pada sorgum hasil optimasi. Daya cerna protein pada bahan baku sebesar 11,81 % dan pada hasil optimasi meningkat menjadi 51,52 %. Meningkatnya daya cerna protein memiliki  $p$  value  $< 0,05$  yang dapat diartikan bahwa, lama fermentasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata terhadap peningkatan daya cerna protein. Daya cerna protein pada sorgum rendah hal ini disebabkan oleh adanya tanin sebagai senyawa antigizi yang mengikat protein menjadi senyawa yang kompleks. Meningkatnya daya cerna protein disebabkan oleh terputusnya ikatan kompleks antara tanin dan



protein. Pada proses fermentasi BAL akan menghasilkan enzim tanase yang berfungsi untuk menghidrolisis kompleks tanin dan protein, serta memutus ikatan rantai peptida panjang menjadi ke bentuk yang lebih sederhana. Bentuk protein yang lebih sederhana akan mempermudah enzim pepsin di saluran pencernaan sehingga daya cerna protein akan meningkat (Pranoto et al. 2013).

#### 5.5.6 Daya serap air

Daya serap air pada tepung sorgum dipengaruhi oleh perlakuan yang diberikan. Daya serap air pada tepung biji sorgum tanpa perlakuan memiliki nilai daya serap air lebih rendah dibandingkan tepung dari biji sorgum yang di fermentasi, berdasarkan hasil penelitian bahwa hasil daya serap air untuk bahan baku sebesar 11,92% sedangkan, untuk hasil optimasi diperoleh 12,9%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ojha et al., 2018) bahwa, tepung sorgum putih yang telah difermentasi menggunakan *L. plantarum* selama 48 jam mampu meningkatkan daya serap air dari 126,2% menjadi 200%. Hasil analisa lanjut menggunakan *Analysis of Variance* diperoleh *p value* <0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa fermentasi sorgum dengan faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap peningkatan daya serap air. (Rakszegi et al. 2014) menyatakan bahwa, daya serap air merupakan kemampuan granula pati dalam menyerap dan menahan air yang berfungsi untuk menghomogenkan adonan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ojha et al., 2018) Pada tepung sorgum fermentasi daya serap air ditentukan oleh interaksi protein dan karbohidrat. Asam amino yang bersifat polar akan berasosiasi dengan amilosa dan amilopektin pada pati sorgum yang menyebabkan kemampuan pati dalam menyerap air meningkat (Yusufu et al., 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ntsamo et al., 2020) bahwa penyerapan dan pengikatan merupakan salah satu sifat protein. Kandungan air yang telah berhasil diserap dan diikat akan digunakan pada proses gelatinisasi pati apabila jumlah air yang diserap dan ditahan tidak mencukupi maka pembentukan gel pada proses gelatinisasi akan tidak optimal.

#### 5.5.7 Kelarutan



Kelarutan merupakan kemampuan tepung untuk larut dalam air, kelarutan tepung dipengaruhi oleh kandungan amilosa dan suhu gelatinisasi yang digunakan. Semakin tinggi suhu gelatinisasi maka kemampuan granula pati untuk mengabsorpsi air akan semakin besar dan kelarutan meningkat. Peningkatan kelarutan dan daya kembang akan selalu berbanding lurus (Rahayu *et al.*, 2019)

Hasil optimasi fermentasi menunjukkan adanya peningkatan kelarutan pada tepung sorgum. Pada tepung sorgum memiliki nilai kelarutan sebesar 33,45% sedangkan pada tepung sorgum hasil fermentasi meningkat menjadi 52,85%.

Berdasarkan penelitian dari (Rahayu *et al.*, 2019) bahwa, konsentrasi inokulum dan lama fermentasi mampu merubah struktu granula pati pada tepung sorgum.

Mikroba pada proses fermentasi memproduksi enzim ekstraseluler amilase dan protease. Pada proses fermentasi kandungan amilosa dan amilopektin akan menurun dikarenakan proses enzimatis. Enzim  $\alpha$  – amylase akan melakukan amilolisis yaitu degradasi pati sempurna menjadi maltose dan maltotriosa. Enzim akan memotong ikatan rantai panjang glikosidik 1,4 – glikosida menjadi rantai pendek. Kadar amilosa pada didalam pati akan mempengaruhi sifat amilografinya. Menurunnya kandungan amilopektin ditandai dengan kekentalan yang menurun dan sifat kelarutan yang tinggi (Kustyawati *et al.*, 2013)

Kelarutan tepung sorgum fermentasi berbanding lurus dengan daya kembang, daya kembang tepung sorgum fermentasi akan berguna untuk menentukan produk yang akan dihasilkan oleh tepung sorgum fermentasi. Semakin tinggi nilai kelarutan maka, semakin tinggi pula nilai daya kembang. Sehingga tepung sorgum fermentasi yang memiliki nilai kelarutan yang tinggi dapat dimanfaatkan untuk produk olahan pangan yang memerlukan daya kembang tinggi seperti bolu dsb. Hasil analisa lanjut menggunakan *Analysis of Variance* diperoleh *p value* <0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa fermentasi sorgum dengan faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap peningkatan kelarutan. Pada penelitian dari, Armanda dan Putri, (2016) menyatakan bahwa tepung sorgum yang telah difermentasi menggunakan ragi tempe dengan konsentrasi 6% selama 16 jam memiliki kelarutan sebesar 42%.

#### 5.5.8 Daya kembang

Daya kembang pada tepung sorgum yang telah optimasi mengalami kenaikan. Tepung sorgum bahan baku memiliki nilai daya kembang yaitu 7,28 g/g



sedangkan perlakuan fermentasi mengalami menjadi 8,82 g/g. Hasil analisa lanjut menggunakan *Analysis of Variance* diperoleh *p value* <0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa fermentasi sorgum dengan faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap peningkatan kelarutan. Pada penelitian dari, Armanda dan Putri (2016) menyatakan bahwa tepung sorgum yang telah difermentasi menggunakan ragi tempe dengan konsentrasi 6% selama 16 jam memiliki daya kembang sebesar 8,86 g/g.

Perubahan fisik dan kimia pada proses fermentasi tepung jagung berdasarkan penelitian dari (Oladeji *et al.*, 2018) disebabkan oleh beberapa hal diantaranya, adanya penurunan pH karena hasil metabolit BAL pada proses fermentasi menyebabkan perubahan ukuran pada tepung. Pada tepung sorgum yang tidak dilakukan fermentasi memiliki ukuran partikel tepung yang lebih besar dibandingkan ukuran partikel tepung yang telah difermentasi. Ukuran partikel tepung akan berpengaruh terhadap kemampuan daya kembang tepung. Pada tepung jagun yang difermentasi dan memiliki ukuran yang lebih kecil akan memiliki nilai daya kembang yang lebih tinggi.

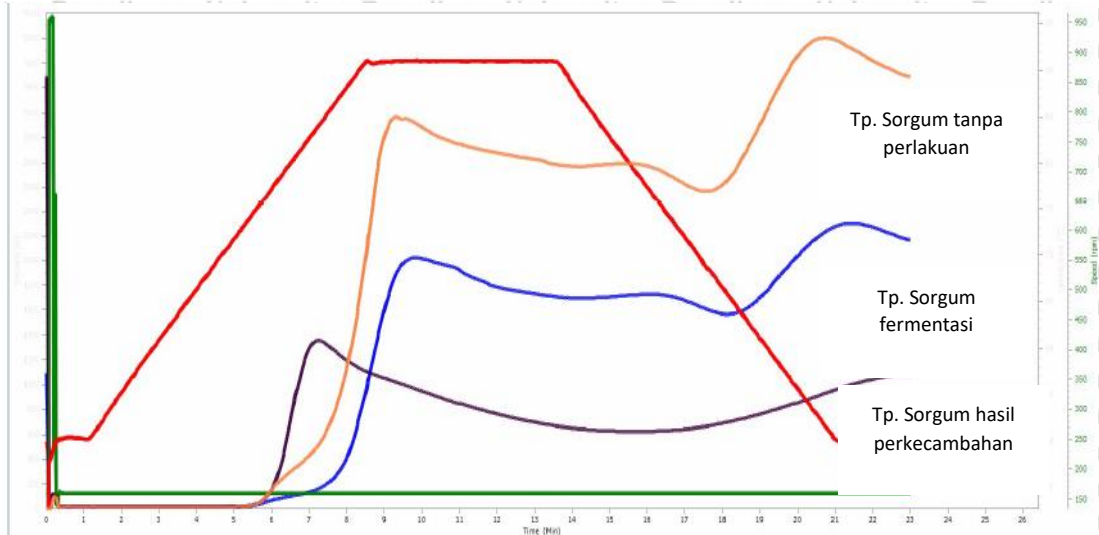
Selain ukuran partikel tepung, fermentasi mampu meningkatkan daya kohesi antara granula pati yang menyebabkan daya kembang pati meningkat. Peningkatan suhu gelatinisasi di kisaran 70°C menyebabkan adanya gerakan termodinamika pada pati yang menyebabkan adanya penetrasi air yang masuk kedalam granula pati sehingga daya kembang meningkat (Oladeji *et al.*, 2018)

### 5.5.9 Pasting properties

**Tabel 5.8 Pasting properties pada tepung sorgum yang dibuat dengan metode tanpa perlakuan dan hasil optimasi fermentasi sorgum**

sampel	Peak 1	Trough 1	Breakdown	Final visc	setback	Pea k	Pastin g temp
						time	
Tepung sorgum tanpa perlakuan	3171,00	2568,00	603,00	3492,00	924,00	9,33	75,80
Tepung sorgum	2021,00	1567,00	454,00	2169,00	602,00	9,80	85,25

fermentasi



**Gambar 5.7** Amilografi tepung sorgum tanpa perlakuan dan tepung sorgum optimasi

Berdasarkan hasil analisa amilografi tepung sorgum tanpa perlakuan dan fermentasi diperoleh hasil analisa sebagai berikut puncak viskositas tepung sorgum tanpa perlakuan lebih tinggi yaitu, 3171,00 sedangkan tepung sorgum fermentasi sebesar 2021,00,. Puncak viskositas merupakan peristiwa pertama kali viskositas dari tepung sorgum mulai mengalami kenaikan, peningkatan viskositas diakibatkan kemampuan granula pati untuk menyerap air sehingga granula pati akan membengkak, pembengkakan granula pati akan bersifat *irreversible* atau tidak dapat kembali ke bentuk semula akibat proses pemasakan dan pemanasan. (Chanapamokkhot dan Thongngam 2007). Pada proses fermentasi BAL akan memecah dinding pati sehingga pati akan memiliki tekstur yang lembut dan berpori hal tersebut menyebabkan daya ikat air pada granula pati akan menurun (Kurniadi et al. 2019). Menurunnya kemampuan pati dalam mengikat air akan berdampak kepada menurunnya kemampuan granula pati dalam menyerap air sehingga, viskositas akan menurun pada proses pemanasan. (Lestari et al., 2015) menyatakan bahwa, rendahnya nilai viskositas berdampak positif terhadap penurunan kehilangan padatan selama proses pemasakan (KPAP) sehingga diperoleh rendemen yang maksimal. Berdasarkan penelitian dari (Tobias et al., 2018), menyatakan bawa puncak viskositas pada tepung sorgum tanpa perlakuan



sebesar 61,58 dan berdasarkan penelitian dari (Setiarto *et al.*, 2017) menyatakan bahwa, puncak viskositas dari biji sorgum dengan perlakuan fermentasi cair sebesar 270. Rendahnya puncak viskositas dikarenakan granula pati memiliki kecenderungan memiliki daya kembang yang rendah (Yusufu *et al.*, 2018)

*Trough viscosity* adalah viskositas minimum yang terjadi saat proses pemanasan berlangsung. Pada proses *trough viscosity* dapat diketahui kestabilan pasta pati selama proses pemanasan (Chanapamokkhot and Thongngam 2007).

Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai dari *trough viscosity* untuk sorgum tanpa perlakuan adalah 2568,00 sedangkan untuk sorgum fermentasi adalah 454,00. Berdasarkan penelitian dari (Tobias *et al.*, 2018) nilai *Trough Viscosity* untuk tepung sorgum tanpa perlakuan adalah 58,47. Rendahnya nilai *trough viscosity* disebabkan rendahnya nilai amilosa. Pada proses fermentasi BAL akan menghasilkan enzim pemecah pati (amilase) dan enzim amilopulanase yang memutus ikatan amilosa dan amilopektin sehingga, kandungan amilosa pada tepung sorgum akan menurun.

*Breakdown viscosity* merupakan peristiwa penurunan viskositas dari viskositas maksimum ke viskositas terendah pada saat proses pemanasan (Falade *et al.*, 2015). Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai *breakdown viscosity* pada tepung sorgum tanpa perlakuan adalah 603,00 sedangkan pada tepung sorgum fermentasi sebesar 454,00. Berdasarkan penelitian dari (Elkhalifa *et al.*, 2007) menyatakan bahwa nilai *breakdown viscosity* pada tepung sorghum tanpa perlakuan adalah 179,3 sedangkan untuk tepung sorgum fermentasi sebesar 188,3. (Lestari *et al.*, 2015) menyatakan bahwa, menurunnya nilai *Breakdown viscosity* menunjukkan kestabilan pasta terhadap proses pemanasan.

Pada produk mi diharapkan memiliki nilai *Breakdown viscosity* yang rendah hal tersebut dikarenakan karakteristik mi yang tidak mudah hancur. Rendahnya nilai *breakdown viscosity* tepung sorgum fermentasi dikarenakan pada saat suhu tetap adanya pengadukan yang tinggi secara terus menerus pada proses gelatinisasi menyebabkan pati kehilangan kemampuan untuk meningkatkan viskositas dan kemampuan untuk dapat berasosiasi (Yusufu *et al.*, 2018) dan terbentuknya ikatan antara amilosa dan lemak (Lestari *et al.*, 2015)

*Final viscosity* adalah kemampuan maksimum dari granula pati tepung sorgum untuk menyerap air dan granula akan membengkak secara maksimum. Peristiwa ini akan diakhiri dengan pecahnya granula pati (Mtelisi *et al.*, 2020). Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa *final viscosity* untuk tepung sorgum tanpa



perlakuan sebesar 3492,00 sedangkan untuk tepung sorgum fermentasi sebesar 2169,00, hal tersebut dikarenakan pada proses fermentasi BAL akan mendegradasi pati yang berdampak kepada menurunnya daya ikat air (Kurniadi *et al.*, 2019). Menurunnya daya ikat air menyebabkan kemampuan pati dalam menyerap air menjadi rendah dan nilai final viskositas menjadi turun. Berdasarkan penelitian dari (Setiarto *et al.*, 2017) menyatakan bahwa, puncak viskositas dari tepung sorgum tanpa perlakuan sebesar 410 sedangkan pada tepung sorgum dengan perlakuan fermentasi cair sebesar 540. Rendahnya nilai final viskositas mengindikasikan rendahnya kualitas produk yang dihasilkan. Ketersediaan pati pada menjadi pasta atau gel setelah proses pemasakan menunjukkan tingginya viskositas dan akan menghasilkan produk yang *berkualitas* (Yusufu *et al.*, 2018)

*Setback viscosity* adalah peristiwa berubahnya viskositas pada tepung solum yang diakibatkan oleh proses pendinginan setelah proses pemanasan berlangsung. Pada proses pendinginan akan terjadi kristalisasi pada pati tepung sorgum yang akan diukur menjadi nilai *setback viscosity* Shafie *et al.*, (2016). Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai dari *setback viscosity* untuk tepung sorgum tanpa perlakuan adalah 924,00 sedangkan pada tepung sorgum fermentasi adalah 602,00, hal tersebut dikarenakan, fermentasi mampu mendegradasi ikatan pada amilosa pati sehingga mencegah amilosa saling berikatan (Retrogradasi) (Elkhalifa *et al.*, 2007). (Lestari *et al.*, 2015) menyatakan bahwa, menurunnya nilai *setback viscosity* merupakan karakteristik yang diinginkan pada proses pengolahan produk pangan. Rendahnya nilai *setback viscosity* dapat memperbaiki karakteristik pada tepung sorgum dikarenakan, menurunkan kekerasan pada produk pangan setelah proses pemasakan. Berdasarkan penelitian dari (Elkhalifa *et al.*, 2007) menyatakan bahwa nilai *setback* dari tepung sorgum tanpa perlakuan adalah 612,3 sedangkan untuk tepung sorgum fermentasi adalah 332,3. *Setback viscosity* menunjukkan kualitas tekstur produk, dan menunjukkan karakter dari pasta pati. *Setback viscosity* yang rendah dikarenakan adanya *softer after cooking* Tepung sorgum fermentasi memiliki nilai *setback viscosity* yang rendah cocok digunakan untuk produk makanan bayi (Yusufu *et al.*, 2018). *Softer after* pada granula pati dikarenakan terputusnya ikatan antara granula pati dengan protein dan lemak (Kumar *et al.*, 2020)

*Peak time* adalah waktu yang dibutuhkan pati tepung sorgum untuk mencapai gelatinisasi secara maksimum (Mtelisi *et al.*, 2020) pada hasil analisa



dapat diketahui bahwa *peak time* dari sorgum tanpa perlakuan adalah 9,30 sedangkan pada tepung sorgum fermentasi adalah 9,80. Berdasarkan penelitian dari (Tobias *et al.*, 2018) nilai dari *peak time* yaitu 6,49 sedangkan berdasarkan penelitian dari (Mtelisi *et al.*, 2020) , nilai dari *peak time* untuk tepung sorgum fermentasi adalah 7,30.

*Pasting time* waktu yang dibutuhkan untuk granula pati dan protein tepung sorgum dalam menyerap air secara maksimal sehingga terbentuk pasta (Falade *et al.*, 2015). Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai dari *pasting time* untuk tepung sorgum tanpa perlakuan adalah 75,80 sedangkan pada tepung sorgum fermentasi adalah 85,25. Berdasarkan penelitian dari (Tobias *et al.*, 2018) bahwa nilai dari *pasting time* untuk sorgum tanpa perlakuan adalah 78,33. Berdasarkan penelitian dari (Yusufu *et al.*, 2018) nilai *pasting time* untuk sorgum fermentasi adalah 89,45. *Pasting time* menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk pada proses pemasakan sehingga dapat disimpulkan bahwa tepung sorgum fermentasi membutuhkan waktu 85,25

Berdasarkan hasil amilografi bahwa tepung sorgum fermentasi baik digunakan untuk produk makanan yang tidak membutuhkan daya kembang yang tinggi contohnya crackers, biskuit, dan bolu. Pada hasil analisa menggunakan RVA tepung sorgum dalam proses pemasakannya membutuhkan waktu dan suhu yang lebih tinggi dibandingkan dengan sorgum yang tidak difermentasi. Hal tersebut dikarenakan, tepung sorgum fermentasi pada proses pemasakan membutuhkan pengadukan secara terus menerus pada proses gelatinisasi sehingga, menyebabkan pati kehilangan kemampuan untuk meningkatkan viskositas dan kemampuan untuk dapat berasosiasi (Yusufu *et al.*, 2018)

## 5.6. Kajian Pustaka: pengaruh fermentasi sorgum terhadap komponen senyawa bioaktif

Sorgum merupakan salah satu jenis sereal yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dikarenakan sorgum kaya akan nutrisi, namun sorgum tidak hanya mengandung nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh tetapi sorgum juga mengandung antinutrisi yang dapat mengganggu penyerapan nutrisi didalam tubuh (Cui *et al.* 2012). Senyawa antinutrisi pada sorgum diantaranya tanin, fitat, saponin, flavanoid dan komponen fenolik. Salah satu solusi yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah antinutrisi adalah fermentasi. Fermentasi sorgum tidak



hanya mempengaruhi senyawa antigizi, seperti tanin, fita namun juga berpengaruh terhadap senyawa bioaktif, pada penelitian yang dilakukan oleh (Adebo *et al.*, 2018a) bahwa, fermentasi mampu mensintesis senyawa bioaktif yang baru contohnya quercetin, asam galat, catechin, catechol (*ortho*-dihydroxyl), galloyl (trihydroxyl) dan rosorchinol (*meta*-dihydroxyl) grup. fermentasi menggunakan BAL mampu menurunkan konsentrasi total flavonoid dan total fenolik. BAL mampu menghidrolisis flavonoid dan fenolik menjadi komponen yang lebih sederhana.

Fermentasi mampu meningkatkan bioavailabilitas dan senyawa bioaktif yang terikat pada dinding sel tanaman.  $\beta$ -glucosidase, decarboxylase, esterases, hydrolases, dan reductase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada saat fermentasi berlangsung, yang berfungsi untuk mendegradasi dinding sel tanaman sehingga bioavailabilitas dari senyawa bioaktif meningkat (Adebo *et al.*, 2018a) Berdasarkan penjelasan diatas bahwa fermentasi tidak hanya berpengaruh terhadap senyawa antinutrisi melainkan juga berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif. Sehingga dalam tesis ini dilakukan kajian pustaka mengenai pengaruh fermentasi sorgum terhadap komponen senyawa bioaktif

**Tabel 5.9** Kondisi fermentasi dan asal Negara sorgum fermentasi

Kondisi fermentasi	Asal Negara	Referensi
Fermentasi menggunakan inokulum murni	Afrika selatan	Adebo <i>et al.</i> , 2017)
Fermentasi menggunakan inokulum murni	Afrika selatan	(Adebo <i>et al.</i> , 2018b)
Fermentasi spontan	Afrika selatan	Adebo <i>et al.</i> , 2019 <sup>1</sup>
Fermentasi menggunakan inokulum murni	Afrika selatan	(Coulibaly <i>et al.</i> , 2020)
Fermentasi menggunakan inokulum murni	Afrika selatan	(Adegbehingbe 2015)
	Afrika selatan	(Adelakun and Duodu 2017)



Fermentasi spontan	Sudan	(Abdualrahman et al., 2019)
Fermentasi spontan	Sudan	(Salma A Salih et al.2020)
Fermentasi spontan	Tanzania	(Towo et al., 2006)
Fermentasi spontan	Nigeria	(Sade Omoba et al., 2018)
Fermentasi spontan	Argentina	(Garzón et al.,2020)
Fermentasi menggunakan inokulum murni		(Ojha et al., 2018)
Fermentasi menggunakan inokulum murni	-	(Sun et al., 2020)
Fermentasi spontan	USA	(Zajdel et al. 2013)
Fermentasi spontan	USA	(Ravisankar et al., 2021)
		(Cui et al. 2012)
	Poland	(Przybylska et al., 2019)
	India	(Punia et al., 2021)
	Brazil	(Cristine et al., 2017)
	USA	(Dykes et al., 2013)

#### 5.6.1 Perubahan senyawa bioaktif sorgum selama fermentasi

Sorgum mengandung senyawa antinutrisi diantaranya favanoid, asam fenolik, tanin, fitat dan saponin. Senyawa antinutrisi tersebut berikatan dengan molekul pada sorgum sehingga bioavailabilitasnya menurun dan sebagai inhibitor enzim antara protease, amilase shingga penyerapan molekul menjadi terganggu. Senyawa bioaktif yang ditemukan pada tanaman sorgum merupakan

hasil dari metabolit sekunder, (Girard and Awika 2018) Komponen asam fenolik pada sereal banyak ditemukan berikatan dengan arabinoxylans atau lignin sehingga tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan sehingga bioavailability menjadi rendah, namun dapat difermentasi oleh mikroorganisme pada usus. (Cristine *et al.*, 2017)

**Tabel 5.10** Senyawa biokatif pada sorgum dan sorgum fermentasi

	Asam tanin	Fitat	Saponin	Komponen fenolik	flavanoid
Bahan baku	0,12-3,47% <sup>1</sup>	180 mg/100g <sup>3</sup>	3,14 % <sup>4</sup>	0,79 mg/kg <sup>4</sup>	106,91 µg/ml
fermentasi	0,997% <sup>2</sup>	40 mg/100g <sup>3</sup>	1,63% <sup>4</sup>	0,35 mg/kg <sup>4</sup>	39,21 µg/ml
Aktivias antioksidan					QE <sup>6</sup>
DPPH	27,69 <sup>8</sup>	2,83 <sup>7</sup>		3,09 <sup>5</sup>	0,689

Sumber : (Dykes *et al.* 2013)<sup>1</sup> (Adebo *et al.* 2017)<sup>2</sup> (Ojha *et al.* 2018)<sup>3</sup> (Adegbehingbe 2015)<sup>4</sup> (Adelakun and Duodu 2017)<sup>5</sup> (Coulibaly *et al.* 2020)<sup>6</sup> (Zajdel *et al.* 2013)<sup>7</sup> (El-Moneim Afify *et al.* 2012)<sup>8</sup>

#### 5.6.1.1 Asam tanin

Tanin merupakan komponen fenolik yang bersifat sebagai antinutrisi pada sorgum. Tanin membentuk kompleks dengan protein sehingga daya cernanya menurun. Proses fermentasi mampu memutus ikatan antara tanin dengan protein (Abdelhaleem *et al.* 2008). Pada **Tabel 10** bahwa, sorgum mengandung tanin 0,12-3,47% (Dykes *et al.* 2013) dan pada proses fermentasi sorgum secara spontan mampu menurunkan konsentrasi tanin secara beda nyata menjadi 0,997%. BAL pada proses fermentasi akan memproduksi asam-asam organik yang menyebabkan pH menjadi rendah, polimer tanin akan terhidrolisa pada kondisi asam menjadi monomer-monomer sederhana yang lebih bermanfaat bagi kesehatan tubuh seperti proantosianidin, kuercetin, asam galat, dan katechin. Asam tanin berguna untuk menurunkan resiko diabetes tipe dua, jantung coroner, dan dapat membantu penderita obesitas dalam menurunkan berat badan (Adebo *et al.* 2017). Tanin sebagai antioksidan memiliki kapasitas antioksidan sebesar 16,39 µ mole/g dan mengalami penurunan setelah proses fermentasi menjadi 12,99 µ mole/g. Aktivitas antioksidan pada sorgum sebesar 27,69% dan



mengalami penurunan setelah proses fermentasi menjadi 22,47%. Penurunan aktivitas tanin dan kapasitas tanin disebabkan pada proses fermentasi terdapat proses hidrolisis tanin oleh BAL dan terdapat tanin yang larut dalam air sehingga menurunkan aktivitas dan kapasitas antioksidan (El-Moneim Afify et al. 2012).

Tanin sebagai antioksidan sekunder sehingga tanin tidak dapat mendonorkan hydrogen pada radikal bebas tetapi tanin sebagai inhibitor peroksidasi lemak, chleating agen pada ion metal seperti Fe (II) dan sebagai inhibitor siklogenesis (Amarowicz 2007)

#### 5.6.1.2 Asam fitat

Asam fitat pada sorgum bersifat sebagai antinutrisi dengan membentuk senyawa yang kompleks dengan protein, mineral, dan zat besi, sehingga ketersediaannya didalam tubuh akan berkurang. Pada **Tabel 10** dapat diketahui bahwa, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ojha et al. 2018) bahwa, kandungan asam fitat pada sorgum sebesar 180 mg /100g. BAL pada proses fermentasi akan memproduksi enzim fitase yang mampu mendegradasi asam fitat menjadi fosfat sehingga, ikatan kompleks antara asam fitat dengan protein mineral dan zat besi akan terputus dan ketersediaannya didalam tubuh akan meningkat (Bohn et al. 2008). asam fitat pada sorgum fermentasi mengalami penurunan secara beda nyata p value <0,05 menjadi 40 mg/100g (Ojha et al. 2018). Sorgum memiliki aktivitas antioksidan sebesar 2,83. Asam fitat bebas atau asam fitat yang sudah tidak teikat oleh molekul lain akan bermanfaat bagi kesehatan tubuh diantaranya sebagai antioksidan. Asam fitat sebagai antioksidan berperan sebagai inhibitor dekomposisi hidroperoksida pada lemak yang disebabkan oleh radikal bebas, *metal chelators*, menurunkan konsentrasi hidroperoksida dan membuatnya menjadi komponen hidroksil yang lebih stabil (Zajdel et al. 2013)

#### 5.6.1.3 Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa non-volatil hasil dari metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada biji-bijian salah satunya adalah sorgum. Saponin merupakan salah satu senyawa antigizi yang berdampak terhadap kesehatan tubuh salah satunya adalah mengganggu penyerapan vitamin A dan vitamin E didalam tubuh dengan cara membentuk kompleks dengan sterol yang



memiliki struktur yang mirip dengan vitamin yang larut dalam lemak, sebagai inhibitor aktivitas enzim amilase, glukosidase, tripsin, kemotripsin dan lipase (Samtiya et al. 2021). Pada **Tabel 10** dapat diketahui bahwa, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Adegbehingbe 2015) kandungan saponin pada sorgum sebesar 3,14%. Fermentasi mampu mendegradasi saponin dari 2,3-dihidroksi-2,5-dihidroksi-6-metil-4H-pyran-4-one (DMMP) menjadi DMMP yang memiliki sifat sebagai antioksidan yang mencegah *oxidative stress* pada tubuh manusia (Samtiya et al. 2021). Kandungan saponin setelah fermentasi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Adegbehingbe 2015) sebesar 1,3%. Saponin memiliki aktivitas endogenus antioksidan yang berfungsi sebagai inhibitor terbentuknya radikal bebas dan sebagai chelating metal ion. Steroid saponin pada dosis >600mg/kg bersifat sebagai antitumor dan mencegah terbentuknya kolesterol

#### 5.6.1.4 Asam fenolik

Asam fenolik bersifat sebagai antinutrisi dikarenakan berikatan dengan molekul –molekul pada bahan pangan, salah satunya adalah asam amino. Asam fenolik membentuk kompleks dengan asam amino sehingga bioavailabilitas asam amino akan menurun selain itu, asam fenolik menyebabkan penurunan berat badan dan menyebabkan komplikasi pada jantung (Samtiya et al. 2020). Pada **Tabel 10** dapat diketahui bahwa kandungan asam fenolik sebesar 0,79 mg/kg. salah satu metode yang dapat digunakan untuk memutus ikatan kompleks pada asam fenolik dengan asam amino adalah fermentasi. BAL pada proses fermentasi sorgum mampu mendegradasi senyawa fenolik menjadi senyawa yang lebih sederhana yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh (Towo et al., 2006). BAL akan memutus rantai karbon pada komponen fenolik untuk digunakan sebagai sumber makanan untuk kehidupannya (Coulibaly et al., 2020) dengan cara menghasilkan enzim amylase dan protease yang berfungsi untuk menghidrolisis asam fenolik menjadi asam fenolik bebas (Sun et al. 2020b)

Asam fenolik pada hasil sorgum fermentasi mengalami penurunan konsentrasi secara nyata p value <0,05 menjadi 0,35 mg/ kg. Asam fenolik tereduksi menjadi senyawa yang lebih sederhana diantaranya catechol (*ortho*-dihydroxyl), galloyl (trihydroxyl) dan rosorchinol (*meta*-dihydroxyl) grup.



Penurunan asam fenolik pada proses fermentasi dikarenakan kondisi asam menyebabkan perubahan struktur pada asam fenolik (Abdualrahman *et al.*, 2019).

Fermentasi mampu meningkatkan kandungan asam amino bebas pada sorgum hal ini disebabkan adanya aktivitas enzim proteolisis yang dihasilkan oleh BAL pada proses fermentasi. Jenis jenis asam amino yang meningkat pada proses fermentasi diantaranya asam amino yang mengandung sulfur, asam amino hidrofobik, dan asam amino aromatik. kandungan asam amino bebas meningkat dari 189 mg/g menjadi 203,30 mg/g, Selain itu fermentasi mampu meningkatkan kandungan asam amino aromatik pada sorgum yang telah difermentasi menjadi 101,50 mg/g, asam amino aromatik berperan penting dalam menangkal radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom hydrogen sehingga radikal bebas akan lebih bersifat stabil (Sade Omoba and Rasheed Isah 2018).

Asam fenolik pada biji sorgum fermentasi terdiri dari berbagai macam jenis diantaranya asam ferulat yang memiliki konsentrasi paling tinggi yaitu 24-47% dibandingkan dengan jenis komponen asam fenolik lainnya (Dykes and Rooney 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Adebo *et al.*, 2019) bahwa, asam fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pada hasil analisa teridentifikasi komponen cyclopropanecarboxylic diantaranya 2,4-di-tert-butylphenol and 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6-9-diene-2,8-dione merupakan komponen penting pada bidang farmasi yang bermanfaat sebagai *radical scavenging*, *metal chleating*, antioksidan, antihidrogen, estereogen, dan *glucocorticoid effect*. FAEs merupakan bagian dari komposisi lemak yang berfungsi sebagai antibacterial, antoksidan dsb. Aktivitas antioksidan pada sorgum fermentasi berdasarkan hasil analisa yang dilakukan oleh 30,9%

#### 5.6.1.5 Flavonoid

Pada **Tabel 5.10** bahwa, sorgum mengandung senyawa flavonoid sebesar 106,91µg/ml QE, fermentasi mampu menurunkan komponen flavonoid menjadi 39,21µg/ml QE (Coulibaly *et al.* 2020). Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, sorgum memiliki kandungan flavonoid 6% lebih tinggi dibandingkan dengan sereal lain, flavonoid dapat terikat dengan protein dan molekul lainnya (Dicko *et al.*, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Adebo *et al.*, 2018b) bahwa, adanya komponen katechin, asam galat, dan Kuercetin pada sorgum. Dengan nilai sebagai berikut katechin (12,4

µg/g), asam galat (0,75 µg/g) dan kuersetin (0,61 µg/g) (Adebo *et al.*, 2017). Kuersetin merupakan salah satu flavonoid yang berfungsi sebagai anti-inflamasi seperti siklogenesi dan lipooksigenesi (Sade Omoba dan Rasheed Isah, 2018).

Fermentasi sorgum mampu meningkatkan kandungan ( $\gamma$  – aminobutiric acid) GABA. Kandungan GABA pada sorgum merah lebih tinggi dibandingkan pada sorgum putih. BAL yang digunakan pada proses fermentasi mampu menghasilkan *Glutamic acid decarboxylases* yang mengkatalisis terbentuknya  $\alpha$  – *decarboxylation glutamic acid* yang dapat digunakan untuk memproduksi GABA. GABA sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh diantaranya menghambat proliferasi pada sel leukemia (Garzón *et al.*, 2020)





**BAB VI****PENUTUP****6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Kondisi optimum untuk fermentasi biji sorgum adalah konsentrasi inokulum 7,8% dan lama fermentasi 55,61 jam, diperoleh sorgum hasil fermentasi yang optimal ditandai dengan penurunan tanin dari 179,88 menjadi 56,33 mg/100g bk (penurunan 64%), fitat dari 113 menjadi 68,21 mg/100g bk (penurunan 60%) dan peningkatan daya cerna protein dari 11,81 menjadi 51,52% (peningkatan 39,71%).
2. Terdapat perbedaan sifat fisik tepung sorgum tanpa fermentasi dan dengan fermentasi. Daya serap air tepung sorgum tanpa fermentasi mengalami peningkatan dari 11,92% menjadi 12,9%; kelarutan meningkat dari 33,45% menjadi sebesar 52,85%; daya kembang meningkat dari 7,28 g/g menjadi sebesar 8,82 g/g. Kadar air pada bahan baku 8,82% mengalami penurunan menjadi 7,78%. Protein pada bahan baku 10,12 % mengalami penurunan menjadi 7,85 %
3. Kandungan senyawa biokatif berdasarkan kajian pustaka, sorgum mengandung senyawa bioaktif diantaranya, tanin 0,997 % dengan aktivitas antioksidan 0,680; fitat 40 mg/100g dengan aktivitas antioksidan 2,83; saponin 1,63%; asam fenolik 0,35 dengan aktivitas antioksidan 30,9 dan flavonoid 39,21 µg/ml QE dengan aktivitas antioksidan 0,689

**6.2. SARAN**

Saran dari penelitian optimasi fermentasi sorgum menggunakan *L.plantarum* sebagai berikut

1. diperlukan adanya penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan daya cerna protein dari faktor endogenus (ex: prolamin)

2. diperlukan adanya pengamatan lebih lanjut pada perubahan senyawa bioaktif dan rendemen tepung yang telah difermentasi dengan faktor konsentrasi inokulum dan lama fermentasi pada skala laboratorium
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aplikasi tepung sorgum menjadi produk pangan untuk meningkatkan daya minat masyarakat terhadap produk pangan berbahan dasar sorgum





## DAFTAR PUSTAKA

- Abah, C. R., Charles N. Ishiwu, James Ejikeme Obiegbuna, and Afees Adebayo Oladejo. 2020. "Sorghum Grains : Nutritional Composition , Functional Properties and Its Food Sorghum Grains : Nutritional Composition , Functional Properties and Its Food Applications." (June). doi: 10.9734/EJNFS/2020/v12i530232.
- Abdelhaleem, Wedad H., Abdullahi H. El Tinay, Abdelmoneim I. Mustafa, and Elfadil E. Babiker. 2008. "Effect of Fermentation, Malt-Pretreatment and Cooking on Antinutritional Factors and Protein Digestibility of Sorghum Cultivars." *Pakistan Journal of Nutrition* 7(2):335–41.
- Abdualrahman, Mohammed Adam Yahya, Haile Ma, Abu El Gasim Ahmed Yagoub, Cunshan Zhou, Ali Osman Ali, and Wang Yang. 2019. "Nutritional Value, Protein Quality and Antioxidant Activity of Sudanese Sorghum-Based Kissra Bread Fortified with Bambara Groundnut (Voandzeia Subterranea) Seed Flour." *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 18(1):32–40. doi: 10.1016/j.jssas.2016.12.003.
- Adebo, Oluwafemi Ayodeji, Patrick Berka Njobeh, Janet Adeyinka Adebiyi, and Eugenie Kayitesi. 2018a. "Author ' s Accepted Manuscript." *Food Bioscience*. doi: 10.1016/j.fbio.2018.08.007.
- Adebo, Oluwafemi Ayodeji, Patrick Berka Njobeh, Janet Adeyinka Adebiyi, and Eugenie Kayitesi. 2018b. "Food Bioscience Co-influence of Fermentation Time and Temperature on Physicochemical Properties , Bioactive Components and Microstructure of Ting ( a Southern African Food ) from Whole Grain Sorghum." *Food Bioscience* 25(August):118–27. doi: 10.1016/j.fbio.2018.08.007.
- Adebo, Oluwafemi Ayodeji, Patrick Berka Njobeh, Antoine Floribert, Mulababafubandi Janet Adeyinka, Steve Carly, and Desobgo Eugenie. 2017. "Optimization of Fermentation Conditions for Ting Production Using Response Surface Methodology." (January):1–10. doi: 10.1111/jfpp.13381.



- Adegbehingbe, K. T. 2015. "Effect of Starter Cultures on the Anti-Nutrient Contents, Minerals and Viscosity of Ogwo, a Fermented Sorghum-Irish Potato Gruel." *International Food Research Journal* 22(3):1247–52.
- Adelakun, Oluyemisi E., and Gyebi Duodu. 2017. "Identification and Quantification of Phenolic Compounds and Bioactive Properties of Sorghum-Cowpea-Based Food Subjected to an In Vitro Digestion Model?" 7(1):57–66. doi: 10.9734/EJNFS/2017/20310.
- Almusallam, Ibrahim A., Isam A. Mohamed Ahmed, Elfadil E. Babiker, Fahad Y. Al Juhaimi, Gbemisola J. Fadimu, Magdi A. Osman, Salah A. Al Maiman, Kashif Ghafoor, and Hesham A. S. Alqah. 2021. "Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Properties from Date Palm (Phoenix Dactylifera L.) Spikelets Using Response Surface Methodology." *Lwt* 140(October 2020):110816. doi: 10.1016/j.lwt.2020.110816.
- Amarowicz, Ryszard. 2007. "Tannins: The New Natural Antioxidants?" *European Journal of Lipid Science and Technology* 109(6):549–51. doi: 10.1002/ejlt.200700145.
- Amrinola, Wiwit, Sri Widowati, and Purwiyatno Hariyadi. 2015. "Metode Pembuatan Sorgum Sosoh Rendah Tanin Pada Pembuatan Nasi Sorgum (Sorghum Bicolor L) Instan." *ComTech: Computer, Mathematics and Engineering Applications* 6(1):9. doi: 10.21512/comtech.v6i1.2280.
- Andriani, Aviv, Balai Penelitian, and Tanaman Serealia. 2006. "Morfologi Dan Fase Pertumbuhan Sorgum." 47–68.
- Anon. 2010. *A Review of Phytate, Iron, Zinc, and Calcium Concentrations in Plant-Based Complementary Foods Used in Low-Income Countries and Implications for Bioavailability.*
- Balitkabi. 2015. "Inovasi Teknologi Dan Pengembangan Produk." *J. Monograf Balitkabi* 1(13):1–250.
- Belton, Peter S., and John R. N. Taylor. 2004. "Sorghum and Millets: Protein Sources for Africa." *Trends in Food Science and Technology* 15(2):94–98. doi: 10.1016/j.tifs.2003.09.002.
- Bohn, Lisbeth, Anne S. Meyer, and Søren K. Rasmussen. 2008. "Phytate: Impact on Environment and Human Nutrition. A Challenge for Molecular Breeding



- \*.” *J Zhejiang Univ Sci B* 9(3):165–91. doi: 10.1631/jzus.B0710640.
- Chanapamokkhot, Hathaichanok, and Masubon Thongngam. 2007. “The Chemical and Physico-Chemical Properties of Sorghum Starch and Flour.” *Kasetsart Journal (Natural Science)* 41(5):343–49.
- Chang, Zihao, Qiunan Zhang, Wenyi Liang, Kun Zhou, Ping Jian, Gaimei She, and Lanzhen Zhang. 2019. “A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from *Terminalia* Linn.” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2019. doi: 10.1155/2019/8623909.
- Collado, L. S., L. B. Mabesa, C. G. Oates, and H. Corke. 2001. “Bihon-Type Noodles from Heat-Moisture-Treated Sweet Potato Starch.” *Journal of Food Science* 66(4):604–9. doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04608.x.
- Cornejo-Ramírez, Yael Isbeth, Olivert Martínez-Cruz, Carmen Lizette Del Toro-Sánchez, Francisco Javier Wong-Corral, Jesús Borboa-Flores, and Francisco Javier Cinco-Moroyoqui. 2018. “The Structural Characteristics of Starches and Their Functional Properties.” *CYTA - Journal of Food* 16(1):1003–17. doi: 10.1080/19476337.2018.1518343.
- Coulibaly, Wahauwouélé Hermann, Koffi Maïzan Jean-Paul Bouatenin, Zambélé Bi Irié Abel Boli, Kouamé Kohi Alfred, Youan Charles Tra Bi, Koky Marc Cellaire N’sa, Marlène Cot, Clement Djameh, and Koffi Marcellin Djè. 2020. “Influence of Yeasts on Bioactive Compounds Content of Traditional Sorghum Beer (Tchapalo) Produced in Côte d’Ivoire.” *Current Research in Food Science* 3:195–200. doi: 10.1016/j.crfs.2020.06.001.
- Cristine, Pamella, Leandro De Moraes, Jaqueline Vieira, Piovesana Gomes, Ceres Mattos, Della Lucia, Carlos Wanderlei, Piler Carvalho, Melicia Cintia, Valéria Aparecida, Vieira Queiroz, Rita De Cássia, Gonçalves Alfenas, Hércia Stampini, Duarte Martino, Helena Maria, and Pinheiro-sant Ana. 2017. “Comparing Sorghum and Wheat Whole Grain Breakfast Cereals : Sensorial Acceptance and Bioactive Compound Content.” 221:984–89. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.065.
- Cui, Li, Da Jing Li, and Chun Quan Liu. 2012. “Effect of Fermentation on the Nutritive Value of Maize.” *International Journal of Food Science and Technology* 47(4):755–60. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02904.x.



Debabandya, Mohapatra, Tripathi Manoj Kumar, Deshpande Sumedha, and R. H. Sadvatha. 2017. "Sorghum Fermentation for Nutritional Improvement."

*Advances in Food Science and Engineering* 1(4):175–95. doi: 10.22606/afse.2017.14005.

Delgadillo, Ivonne, Isabel Correia, Alexandra Nunes, and Iola F. Duarte. 2005.

"Food Chemistry Sorghum Fermentation Followed by Spectroscopic Techniques." 90:853–59. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.05.060.

Dicko, Mamoudou H., Harry Gruppen, Alfred S. Traoré, Alphons G. J. Voragen, and Willem J. H. Van Berkel. 2006. "Sorghum Grain as Human Food in

Africa: Relevance of Content of Starch and Amylase Activities." *African Journal of Biotechnology* 5(5):384–95. doi: 10.4314/ajb.v5i5.

Dykes, Linda, and Lloyd W. Rooney. 2006. "Sorghum and Millet Phenols and Antioxidants." *Journal of Cereal Science* 44(3):236–51. doi: 10.1016/j.jcs.2006.06.007.

Dykes, Linda, William L. Rooney, and Lloyd W. Rooney. 2013. "Evaluation of Phenolics and Antioxidant Activity of Black Sorghum Hybrids." *Journal of Cereal Science* 1–6. doi: 10.1016/j.jcs.2013.06.006.

El-Moneim Afify, Abd MR, Hossam S. El-Beltagi, Samiha M. Abd El-Salam, and Azza A. Omran. 2012. "Biochemical Changes in Phenols, Flavonoids, Tannins, Vitamin E, ̢-Carotene and Antioxidant Activity during Soaking of Three White Sorghum Varieties Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine." *Document Heading Asian Pac J Trop Biomed* 2(3):203–9. doi: 10.1016/S2221-1691(12)60042-2.

Elkhalifa, Abd Elmoneim O., Asma M. Ali, and A. H. El Tinay. 2007.

"Fermented Sorghum Foods of Sudan - A Review." *Journal of Food Science and Technology* 44(4):343–49.

Elkhalifa, Abd Elmoneim O., Burkhard Schiffler, and Rita Bernhard. 2004.

"Effect of Fermentation on the Starch Digestibility, Resistant Starch and Some Physicochemical Properties of Sorghum Flour." *Nahrung - Food* 48(2):91–94. doi: 10.1002/food.200300322.

Falade, Kolawole O, Chidinma A Okafor, K O Falade, and C A Okafor. 2015.

"Physical, Functional, and Pasting Properties of Flours from Corms of Two



- Cocoyam (*Colocasia Esculenta* and *Xanthosoma Sagittifolium*) Cultivars.” *J Food Sci Technol* 52(6):3440–48, doi: 10.1007/s13197-014-1368-9.
- Feyera, Milkesa. 2021. “Overview of Malting and Fermentation Role in Sorghum Flour, Primarily for Antinutrient Reduction.” 9:1–9.
- Garzón, Antonela G., Franco Van de Velde, and Silvina R. Drago. 2020. “Gastrointestinal and Colonic in Vitro Bioaccessibility of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) and Phenolic Compounds from Novel Fermented Sorghum Food.” *Lwt* 130(June):109664. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109664.
- Gemed, Habtamu Fekadu. 2014. “Potential Health Benefits and Adverse Effects Associated with Phytate in Foods.” 27(June):45–55.
- Girard, Audrey L., and Joseph M. Awika. 2018. “Sorghum Polyphenols and Other Bioactive Components as Functional and Health Promoting Food Ingredients.” *Journal of Cereal Science*. doi: 10.1016/j.jcs.2018.10.009.
- Hidayah, N. 2016. “Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds ( Tannin and Saponin ) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock.” *WARTAZOA. Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences* 11(2):89–98.
- Hurrell, Richard F., Manju B. Reddy, Marcel-A. Juillerat, and James D. Cook. 2003. *Printed in USA*. Vol. 77.
- Indriani, Dwi Okta, Luqvia Noer, Islami Syamsudin, and Feronika Heppy Sriherfyna. 2015. “INVERTASE DARI *Aspergillus Niger* DENGAN METODE SOLID STATE FERMENTATION DAN APLIKASI DI INDUSTRI : KAJIAN PUSTAKA Invertase of *Aspergillus Niger* With Solid State Fermentation Method And The Application In Industry : A Review.” 3(4):1405–11.
- Iqbal, Zafar, Muhammad Sohail Sajid, Rao Zahid Abbas, and Zia Ud Din Sindhu. 2011. “Determination of Condensed Tannin Contents from Different Plants of Kherimurat Rangeland (Attock, Pakistan).” *Journal of Agriculture and Social Sciences* 7(3):114–16.
- Jagung, Karakteristik. 2005. “Teknologi Pengolahan Jagung.” 386–409.
- Jaiswal, Himanshu, Om Ji Singh, Ankit Chauhan, Maneesh Kumar Sahu, and Surya Prakash Dv. 2018. “A Review on Tannins.” *European Journal of*



- Biotechnology and Bioscience* 6(3):16–17.
- Jiménez, Natalia, María Esteban-Torres, José Miguel Mancheño, Blanca De las Rivas, and Rosario Muñoz. 2014. “Tannin Degradation by a Novel Tannase Enzyme Present in Some *Lactobacillus Plantarum* Strains.” *Applied and Environmental Microbiology* 80(10):2991–97. doi: 10.1128/AEM.00324-14.
- Katresna, N. P. 2017. “PENGARUH SUBSTITUSI TEPUNG MODIFIKASI SORGUM (*Shorgum Bicolor* L) DAN TERIGU DENGAN PENAMBAHAN BEKATUL BERAS (Rice Bran) TERHADAP ...”
- Kebakile, Martin Mosinyi. 2008. “TITLE PAGE Sorghum Dry-Milling Processes and Their Influence on Meal and Porridge Quality By.” (July).
- Kewuyemi, Yusuf Olamide, Patrick Berka Njobeh, Eugenie Kayitesi, Janet Adeyinka Adebisi, Ajibola Bamikole Oyediji, Martins Ajibade Adefisoye, and Oluwafemi Ayodeji Adebo. 2020. “Metabolite Profile of Whole Grain Ting (a Southern African Fermented Product) Obtained Using Two Strains of *Lactobacillus Fermentum*.” *Journal of Cereal Science* 103042. doi: 10.1016/j.jcs.2020.103042.
- Kishor Gupta, Raj, Shivraj Singh Gangoliya, and Nand Kumar Singh. n.d. “Reduction of Phytic Acid and Enhancement of Bioavailable Micronutrients in Food Grains.” doi: 10.1007/s13197-013-0978-y.
- Kruger, Johanita, John R. N. Taylor, and André Oelofse. 2012. “Effects of Reducing Phytate Content in Sorghum through Genetic Modification and Fermentation on in Vitro Iron Availability in Whole Grain Porridges.” *Food Chemistry* 131(1):220–24. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.063.
- Kumar, Vikas, Amit K. Sinha, Harinder P. S. Makkar, and Klaus Becker. 2020. “Dietary Roles of Phytate and Phytase in Human Nutrition : A Review.” 120(2010):945–59. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.11.052.
- Kurniadi, M., M. F. Arsyad, A. M. Sari, R. Nurhayati, and T. Wiyono. 2019. “The Effect of Fermentation Duration and Starter Concentration on Physicochemical Properties of Modified Sorghum Flour by *Lactobacillus Plantarum* FNCC 0027.” *Food Research* 3(5):441–47. doi: 10.26656/fr.2017.3(5).098.
- Kustyawati, Maria Erna, Merlia Sari, and Teti Haryati. 2013. “EFEK



# FERMENTASI DENGAN *Saccharomyces Cerevisiae* TERHADAP KARAKTERISTIK BIOKIMIA TAPIOKA Effect of Fermentation Using *Saccharomyces Cerevisiae* on the Biochemical Properties Tapioca.”

33(3):281–87.

Lee, H. H., S. P. Loh, C. F. J. Bong, S. R. Sarbini, and P. H. Yiu. n.d. “Impact of Phytic Acid on Nutrient Bioaccessibility and Antioxidant Properties of Dehusked Rice.” doi: 10.1007/s13197-015-1918-9.

Lestari, Oke Anandika, Feri Kusnandar, and Nurheni Sri Palupi. 2015. “Pengaruh Heat Moisture Treated (HMT) Terhadap Profil Gelatinisasi Tepung Jagung.” *Teknologi Pertanian* 16(1):75–80.

Liang, F. 2006. “The Penetration Rate into Pelt of Waxberry Vegetable Extracts with Different Tannin Content.” *West Leather* 91(2):20–22.

Liu, Qiang, Elizabeth Donner, Richard Tarn, Jaspreet Singh, and Hyun-Jung Chung. 2009. *Advanced Analytical Techniques to Evaluate the Quality of Potato and Potato Starch*. First Edit. Elsevier Ltd.

Makokha, Anselimo O., Ruth K. Oniang’o, Simon M. Njoroge, and Oliver K. Kamar. 2002. “Effect of Traditional Fermentation and Malting on Phytic Acid and Mineral Availability from Sorghum (*Sorghum Bicolor*) and Finger Millet (*Eleusine Coracana*) Grain Varieties Grown in Kenya.” *Food and Nutrition Bulletin* 23(3 SUPP):241–45. doi: 10.1177/15648265020233s147.

McMahon, L. R., T. A. McAllister, B. P. Berg, W. Majak, S. N. Acharya, J. D. Popp, B. E. Coulman, Y. Wang, and K. J. Cheng. 2000. “A Review of the Effects of Forage Condensed Tannins on Ruminant Fermentation and Bloat in Grazing Cattle.” *Canadian Journal of Plant Science* 80(3):469–85. doi: 10.4141/P99-050.

Mertz, E. T., M. M. Hassen, and C. Cairns Whittern. 1984. “Pepsin Digestibility of Proteins in Sorghum and Other Major Cereals.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81(1 D):1–2. doi: 10.1073/pnas.81.1.1.

Mohammed, Z. S., A. H. Mabudi, Y. Murtala, S. Jibrin, S. Sulaiman, and J. Salihu. 2019. “Nutritional Analysis of Three Commonly Consumed Varieties of Sorghum (*Sorghum Bicolor* L.) in Bauchi State, Nigeria.” *Journal of*



- Applied Sciences and Environmental Management* 23(7):1329. doi: 10.4314/jasem.v23i7.21.
- Mtelisi Dube, Nhlanhla, Fei Xu, and Renyong Zhao. 2020. "The Efficacy of Sorghum Flour Addition on Dough Rheological Properties and Bread Quality: A Short Review." *Grain & Oil Science and Technology* 3(4):164–71. doi: 10.1016/j.gaost.2020.08.001.
- Murtini, Erni Sofia, Ahmad Subagio, Sudarminto Setyo Yuwono, Irawan Setya Wardhana, and Sulthon Fathoni. 2018. "Karakterisasi Potensi Dan Komponen Pembatas Pada Biji Sorghum Lokal Varietas Coklat Sebagai Tanaman Pangan ( Characterisation of Potential and Limiting Factors of Locally-Grown Brown Sorghum as Staple Food)." *Agritech* 38(1):112. doi: 10.22146/agritech.10736.
- Narsih, Yunianta, and Harijono. 2010. "The Study on Sorghum (Sorghum Bicolor L. Moench) Soaking and Germination Time to Produce Low Tannin and Phytic Phytic Acid Flour." *Jurnal Teknologi Pertanian* 9(3):173–80.
- Nissar, Jasia, Tehmeena Ahad, H. R. Naik, and S. Z. Hussain. 2017. "A Review Phytic Acid: As Antinutrient or Nutraceutical." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(6):1554–60.
- Ntsamo, Thierry Marcel Beumo, Bouba Adji Mohammadou, Alphonse Tegang Sokamte, Nicolas Yanou Njintang, and Leopold Ngouné Tatsadjieu. 2020. "Effect of Fermentation Using Lactobacillus Plantarum A6 on the Physicochemical and Functional Properties of Precooked Sorghum Bicolor and Voandzeia Subterranea Blended Flour." *International Journal of Food Science* 2020. doi: 10.1155/2020/9234083.
- Nurmiah, Sitti, Rizal Syarief, Sukarno Sukarno, Rosmawaty Peranginangin, and Budi Nurmata. 2013. "Aplikasi Response Surface Methodology Pada Optimalisasi Kondisi Proses Pengolahan Alkali Treated Cottonii (ATC)." *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan* 8(1):9. doi: 10.15578/jpbkp.v8i1.49.
- Ojediran, T. K., A. F. Aja Yi, and I. A. Emiola. 2018. "Condensed Tannin in Two Varieties of Sorghum (Sorghum Bicolor): Effect on the Growth Performance and Nutrient Digestibility of Broiler Chickens." *Scientific Papers: Animal ...*



- 51(2):26–33.
- Ojha, Pravin, Roshan Adhikari, Roman Karki, Achyut Mishra, Ujjwol Subedi, and Tika Bahadur Karki. 2018. “Malting and Fermentation Effects on Antinutritional Components and Functional Characteristics of Sorghum Flour.” *Food Science and Nutrition* 6(1):47–53. doi: 10.1002/fsn3.525.
- Oladeji, B. S., O. A. Irinkoyenikan, C. T. Akanbi, and S. O. Gbadamosi. 2018. “Effect of Fermentation on the Physicochemical Properties, Pasting Profile and Sensory Scores of Normal Endosperm Maize and Quality Protein Maize Flours.” *International Food Research Journal* 25(3):1100–1108.
- Olamiti, G., T. K. Takalani, D. Beswa, and A. I. O. Jideani. 2020. “Effect of Malting and Fermentation on Colour, Thermal Properties, Functional Groups and Crystallinity Level of Flours from Pearl Millet (*Pennisetum Glaucum*) and Sorghum (*Sorghum Bicolor*).” *Heliyon* 6(12):e05467. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05467.
- Onyango, C. A., S. O. Ochanda, M. A. Mwasaru, J. K. Ochieng, F. M. Mathooko, and J. N. Kinyuru. 2013. “Effects of Malting and Fermentation on Anti-Nutrient Reduction and Protein Digestibility of Red Sorghum, White Sorghum and Pearl Millet.” *Journal of Food Research* 2(1):41. doi: 10.5539/jfr.v2n1p41.
- Osawa, Ro, Keiko Kuroiso, Satoshi Goto, and Akira Shimizu. 2000. “Isolation of Tannin-Degrading Lactobacilli from Humans and Fermented Foods.” *Applied and Environmental Microbiology* 66(7):3093–97. doi: 10.1128/AEM.66.7.3093-3097.2000.
- Osman, Magdi A. 2004. “Changes in Sorghum Enzyme Inhibitors, Phytic Acid, Tannins and in Vitro Protein Digestibility Occurring during Khamir (Local Bread) Fermentation.” *Food Chemistry* 88(1):129–34. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.12.038.
- Osman, Magdi A. 2011. “Effect of Traditional Fermentation Process on the Nutrient and Antinutrient Contents of Pearl Millet during Preparation of Lohoh.” *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 10(1):1–6. doi: 10.1016/j.jssas.2010.06.001.
- Parwiyanti, F. Pratama, A. Wijaya, and N. Malahayati. 2015. “Swelling Dan



- Kelarutan Pati Ganyong ( *Canna Edulis* Kerr .) Termodifikasi Melalui Heat-Moisture Treatment Dan Penambahan Gum Xanthan Untuk Produk Roti.”
- Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang Dan Umbi* 692–99.
- Penelitian, Balai, Tanaman Serealia, and Sulawesi Selatan. 2015. “Potensi Sorgum Sebagai Bahan Pangan Fungsional.” *Iptek Tanaman Pangan* 7(1):58–66.
- Persiapan, Studi, and Tepung Sorgum. 2012. “DAN APLIKASINYA PADA PEMBUATAN BERAS ANALOG Study of Preparation Sorghum Flour.” 13(3):177–86.
- Pranoto, Yudi, Sri Anggrahini, and Zulman Efendi. 2013. “Effect of Natural and *Lactobacillus Plantarum* Fermentation on In-Vitro Protein and Starch Digestibilities of Sorghum Flour.” *Food Bioscience* 2:46–52. doi: 10.1016/j.fbio.2013.04.001.
- Przybylska, Anna, Balcerek Jakub, Frankowski Kinga, and Stuper Szablewska. 2019. “Bioactive Compounds in Sorghum.” *European Food Research and Technology* 245(5):1075–80. doi: 10.1007/s00217-018-3207-0.
- Punia, Himani, Jayanti Tokas, Anurag Malik, Satpal, and Sonali Sangwan. 2021. “Characterization of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Sorghum [*Sorghum Bicolor* (L.) Moench] Grains.” *Cereal Research Communications* (0123456789). doi: 10.1007/s42976-020-00118-w.
- Rahayu, E., N. Hidayah, and R. S. Adiandri. 2019. “Profile of Modified Sorghum Flour Fermented by *Lactobacillus Brevis*.” *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 309(1). doi: 10.1088/1755-1315/309/1/012026.
- Rahman, Ibrahim Elzien Abdel, and Magdi Abdel Whab Osman. 2011. “Effect of Sorghum Type (*Sorghum Bicolor*) and Traditional Fermentation on Tannins and Phytic Acid Contents and Trypsin Inhibitor Activity.” *Journal of Food, Agriculture and Environment* 9(3–4):163–66.
- Rakszegi, M., G. Balázs, F. Békés, A. Harasztos, A. Kovács, L. Láng, Z. Bedo, and S. Tömösközi. 2014. “Modelling Water Absorption of Wheat Flour by Taking into Consideration of the Soluble Protein and Arabinoxylan Components.” *Cereal Research Communications* 42(4):629–39. doi:



- 10.1556/CRC.2014.0007.
- Ramadhani, Reshita Amalia, Dody Herdian Saputra Riyadi, Bayu Triwibowo, and Ratna Dewi Kusumaningtyas. 2017. "Review Pemanfaatan Design Expert Untuk Optimasi Komposisi Campuran Minyak Nabati Sebagai Bahan Baku Sintesis Biodiesel." *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan* 1(1):11. doi: 10.33795/jtkl.v1i1.5.
- Ravisankar, Shreeya, Halef Dizlek, and Joseph M. Awika. 2021. "Changes in Extractable Phenolic Profile during Natural Fermentation of Wheat, Sorghum and Teff." *Food Research International* 145(December 2020):110426. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110426.
- Rheem, Sungsoo, Insoo Rheem, and Sejong Oh. 2017. "Response Surface Methodology Using a Full Factorial Balanced Model: A Re-Analysis of a Dataset in the Korean Journal for Food Science of Animal Resources." *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 37(1):139–46. doi: 10.5851/kosfa.2017.37.1.139.
- Ridlo, M., S. Kumalaningsih, and D. Pranowo. 2019. "Optimization of Microwave Assisted Extraction from *Rhodomyrtus tomentosa* Fruits Using Response Surface Methodology." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 230(1). doi: 10.1088/1755-1315/230/1/012041.
- Sade Omoba, Olufunmilayo, and Laisi Rasheed Isah. 2018. "Influence of Sourdough Fermentation on Amino Acids Composition, Phenolic Profile, and Antioxidant Properties of Sorghum Biscuits." *Prev. Nutr. Food Sci* 23(3):220–27. doi: 10.3746/pnf.2018.23.3.220.
- Salma A Salih, Khogali E Ahmed, Lana T Ezzdeen, and Abdelhalim A Hamza. 2020. "Effect of Fermentation and Processing of Sorghum Bicolor Grains to Produce Traditional Sudanese Hulu-Mur on Phytochemicals and Their Biological Activities." *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 10(3):076–084. doi: 10.30574/gscbps.2020.10.3.0040.
- Samtiya, Mrinal, Rotimi E. Aluko, and Tejpal Dhewa. 2020. "Plant Food Anti-Nutritional Factors and Their Reduction Strategies: An Overview." *Food Production, Processing and Nutrition* 2(1):1–14. doi: 10.1186/s43014-020-0020-5.



Samtiya, Mrinal, Rotimi E. Aluko, Anil Kumar Puniya, and Tejpal Dhewa. 2021.

“Enhancing Micronutrients Bioavailability through Fermentation of Plant-Based Foods: A Concise Review.” *Fermentation* 7(2):1–13. doi: 10.3390/fermentation7020063.

Samuel Antwi1, 2. 2008. “[Ahmad, et Al.” (December):1–14.

Schons, Patrícia Fernanda, Vania Battestin, and Gabriela Alves Macedo. 2012.

“FERMENTATION AND ENZYME TREATMENTS FOR SORGHUM.” *Brazilian Journal of Microbiology* 89–97.

Schons, Patrícia Fernanda, Vania Battestin, and Gabriela Alves Macedo. 2012.

“Fermentation and Enzyme Treatments for Sorghum.” *Brazilian Journal of Microbiology* 43(1):89–97. doi: 10.1590/S1517-83822012000100010.

Sedghi, M., A. Golian, P. Soleimani-Roodi, A. Ahmadi, and M. Aami-Azghadi.

2012. “Relationship between Color and Tannin Content in Sorghum Grain: Application of Image Analysis and Artificial Neural Network.” *Revista Brasileira de Ciencia Avicola* 14(1):57–62. doi: 10.1590/S1516-635X2012000100010.

Setiarto, R.H.B, Widhyastuti, N. dan Saskiawan, I. 2017. “Characteristics

Amylograph Sorghum Flour Fermentation and It Characteristics Amylograph Sorghum Flour Fermentation and It.” *Dinamika Penelitian Industri* 28(June):10–19.

Singh, Jaspreet, Anne Dartois, and Lovedeep Kaur. 2010. “Starch Digestibility in

Food Matrix: A Review.” *Trends in Food Science and Technology* 21(4):168–80. doi: 10.1016/j.tifs.2009.12.001.

Sirappa, MP. 2003. “Prospect of Sorghum Development in Indonesia as an

Alternative Commodity for Food, Feed and Industry.” *J. Litbang. Pert.* 22(4):133–40.

Sorghum, Brown, Flour Terfermentasi, and Ragi Tape. 2016. “1\*, 11).”

4(2):458–67.

Suarni, and Firmansyah. 2016. “Struktur, Komposisi Nutrisi Dan Teknologi

Pengolahan Sorgum.” *Balai Penelitian Tanaman Serealia* 11(4):1–21.

Sun, Hongyi, Haoxin Wang, Pangzhen Zhang, Said Ajlouni, and Zhongxiang

Fang. 2020a. “Changes in Phenolic Content, Antioxidant Activity, and



- Volatile Compounds during Processing of Fermented Sorghum Grain Tea.” *Cereal Chemistry* 97(3):612–25. doi: 10.1002/CCHE.10277.
- Sun, Hongyi, Haoxin Wang, Pangzhen Zhang, Said Ajlouni, and Zhongxiang Fang. 2020b. *Changes in Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Volatile Compounds during Processing of Fermented Sorghum Grain Tea*. Vol. 97.
- Svensson, Louise, Bonno Sekwati-Monang, Daise Lopes Lutz, Reas Schieber, and Michael G. Gänzle. 2010. “Phenolic Acids and Flavonoids in Nonfermented and Fermented Red Sorghum (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench).” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(16):9214–20. doi: 10.1021/jf101504v.
- Tapiwa, Kugedera Andrew. 2019. “Polyphenols in Sorghum, Their Effects on Broilers and Methods of Reducing Their Effects: A Review.” *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 19(1):14058–61. doi: 10.26717/bjstr.2019.19.003243.
- Tobias, J. R., I. J. L. Castro, O. R. Peñarubia, C. E. Adona, and R. B. Castante. 2018. “Physicochemical and Functional Properties Determination of Flour, Unmodified Starch and Acid-Modified Starch of Philippine-Grown Sorghum (*Sorghum Bicolor* L. Moench).” *International Food Research Journal* 25(6):2640–49.
- Tomás-Barberán, Francisco A., and Juan Carlos Espín. 2001. “Phenolic Compounds and Related Enzymes as Determinants of Quality in Fruits and Vegetables.” *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81(9):853–76. doi: 10.1002/jsfa.885.
- Towo, Elifatio, Erika Matuschek, and Ulf Svanberg. 2006. “Fermentation and Enzyme Treatment of Tannin Sorghum Gruels: Effects on Phenolic Compounds, Phytate and in Vitro Accessible Iron.” *Food Chemistry* 94(3):369–76. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.11.027.
- Verni, Michela, Carlo Giuseppe Rizzello, and Rossana Coda. 2019. “Fermentation Biotechnology Applied to Cereal Industry By-Products: Nutritional and Functional Insights.” *Frontiers in Nutrition* 6(April):1–13. doi: 10.3389/fnut.2019.00042.
- Yulifianti, Rahmi, Erliana Ginting, and Joko Susilo Utomo. 2017. “Terigu



Mendukung Diversifikasi Pangan.” *Buletin Palawija* 12(23):1–12.

Yusufu, Mohammed Ikagu; Onu, EA; Ahure, D. 2018. “Effect of Malted Fermented Sorghum Flour Addition on the Functional , Pasting and Sensory

Properties of Danwake : A Cowpea-Cassava Indigenous Food Product.”

*Journal of Human Nutrition & Food Science* 6(2):1124.

Zajdel, Alicja, Adam Wilczok, Ludmiła Węglarz, and Zofia Dzierzewicz. 2013.

“Phytic Acid Inhibits Lipid Peroxidation in Vitro.” *BioMed Research*

*International* 2013. doi: 10.1155/2013/147307.





## LAMPIRAN

### Lampiran 1 . Metode analisa Analisa mikro

#### 1.1 Total plate count

Penghitungan jumlah bakteri *starter* menggunakan metode penghitungan jumlah koloni (*Total Plate Count*).

- 1) Sebanyak 1 mL *starter* bakteri dimasukkan ke dalam tabung pengenceran berseri yang berisi 9 mL larutan pepton pada empat tabung, menggunakan mikropipet yang berbeda untuk setiap pengenceran.
- 2) Kemudian sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri diambil dari tabung 2, 3, dan 4, dimasukkan ke dalam *petridish* yang telah berisi medium MRS-agar padat, kemudian ratakan dengan *drigalsky*, untuk masing-masing pengenceran dibuat dua kali pengulangan.
- 3) Selanjutnya, diinkubasi pada temperatur 37°C selama 48 jam. Menghitung jumlah koloni dengan alat *colony counter*. Dengan jumlah koloni tiap *petridish* adalah 30 sampai 300 koloni.

### Analisa kimia

#### 1.2 pH dan basa titrasi

- 1) pH diukur menggunakan pH meter sedangkan untuk analisa basa titrasi menggunakan 20 ml media fermentasi dan dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N
- 2) diambil 10 ml sampel (media fermentasi) dimasukkan kedalam lau ukur dan ditambahkan aquades hingga tanda batas
- 3) ditambahkan 3 tetes indicator PP
- 4) dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N yang sudah distandarisasi dengan H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0,1N hingga berubah warna menjadi pink stabil.

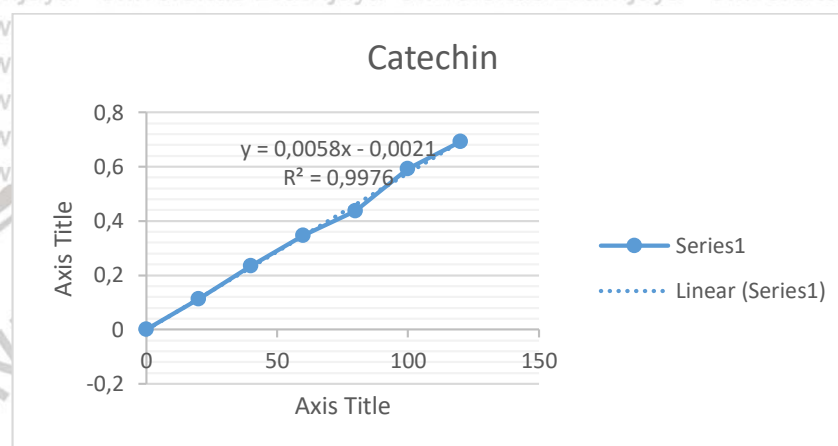
$$TA = \frac{V_{NaOH} \times N_{NaOH} \times BM_{asam} \times FP}{volume\ bahan \times 1000}$$



### 1.3 Tanin metode Vanillin-HCL (Price *et al.*, 1987 dalam (Osman 2004)

- 1) 1 g sampel diekstrak menggunakan 10 ml 1% HCL dalam methanol selama 24 jam pada suhu ruang.
- 2) disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 5000 rpm. Diambil 1 ml supernatant dan ditambahkan 5 ml reagent Vanillin-HCL
- 3) diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang. Dibaca pada panjang gelombang 500 nm.

$$\text{Kadar tanin} = \frac{\text{kadar tanin larutan (x)} \times \text{volume} \times \text{faktor pengenceran}}{g} \times 100$$



Gambar. Persamaan regresi linear catechin

### 1.4 Fitat (Makower *et al.*, 1970)

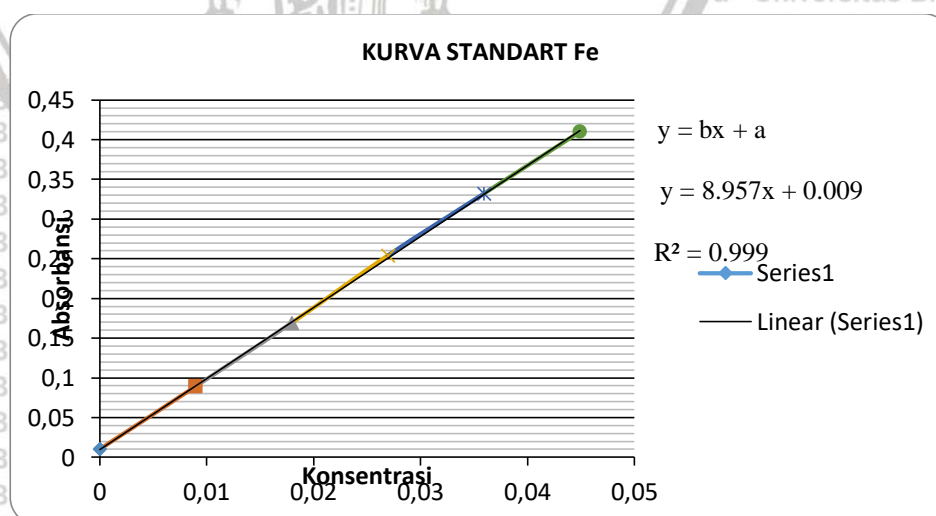
- 1) Di Timbang sampel yang sudah dihaluskan sebanyak 2 gram ke dalam erlenmayer 100 ml
- 2) ditambahkan 25 ml TCA 3 % ,kemudian gerus menggunakan lumpang porcelain. Saring/centrifuge larutan,kemudian ambil 5 ml larutan jernih masukkan ke dalam tabung centrifuge.
- 3) ditambahkan 5 ml larutan  $\text{FeCl}_3$  1 N kemudian panaskan dengan waterbath suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 1 jam.
- 4) Dinginkan larutan kemudian centrifuge larutan selama 10-15 menit kemudian supernatant dibuang.cuci endapan dengan 10 ml TCA 3 % kemudian di centrifuge lagi selama 10-15 menit kemudian buang supernatannya.
- 5) Ulangi pencucian dengan menambahkan aquadest kemudian di centrifuge lagi selam 10-15 menit,kemudian buang supernatannya.



- 6) ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml NaOH 0,6 N, kemudian panaskan dalam waterbath selama 45 menit dengan suhu 100°C.
- 7) Dinginkan kemudian centrifuge larutan selama 10-15 menit kemudian supernatant dibuang. lakukan pencucian dengan menggunakan aquadest kemudian centrifuge larutan selama 10-15 menit kemudian supernatant dibuang.
- 8) Endapan kemudian dilarutkan dalam HCL 0,5 dan di panaskan menggunakan waterbath selama 10-15 menit dengan suhu 100°C sampai warna jernih kekuningan tercapai.
- 9) Tuang pada labu ukur 100 ml kemudian encerkan sampai tanda tera menggunakan HCL 0,1 N.
- 10) Kemudian analisa kadar besinya. Ambil 1 ml larutan tambahkan 2 ml larutan Ammonium Thiocyanat 1,5 M maka akan terbentuk warna merah.
- 11) Tambahkan aquadest sampai volume 10 ml kemudian baca absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm.
- 12) Catat data yang diperoleh kemudian hitung menggunakan rumus.

$$\text{Kadar Asam Pitat ( \% )} = \frac{\text{Berat Fe ( X )} \times \text{Faktor Pengenceran} \times \frac{\text{BM Pitat ( 660 )}}{4 \times \text{BA Fe ( 55,85 )}}}{\text{berat sampel ( Miligram )}} \times 10$$

$$X = \frac{y - a}{b} \quad Y = \text{Absorbansi sampel}$$



### 1.5 Analisa daya cerna protein (Mertz et al.,1984)



- 1) Tepung sorgum ditimbang sebanyak 200 mg dan dimasukkan kedalam erlenmeyer.
- 2) Ditambahkan enzim pepsin sebanyak 35 ml (1,5 g enzim pepsin/L dilarutkan dalam 0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Ph 2 )
- 3) diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 2 jam menggunakan shaker waterbath. Setelah diinkubasi ditambahkan 2N NaOH
- 4) disentrifugasi dengan kecepatan 4900 pada suhu  $2^\circ\text{C}$ . tepung sorgum dicuci sebanyak dua kali menggunakan 20 ml larutan buffer (0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Ph 7). Perhitungan N menggunakan metode kjedahl (AOAC, 2006).

Perhitungan daya cerna protein (% *digestibility*) :

$$\frac{N_{\text{awal}} - N_{\text{sorgum yang tidak dicerna}}}{N_{\text{awal}}} \times 100$$

## Analisa fisik

### 1.6 Daya kembang / Swelling power dan kelarutan (Collado *et al.*, 2001)

- 1) Sampel ditimbang sebanyak 0,35 g basis kering di dalam tabung sentrifus.
- 2) ditambahkan 12,5 ml air distilata. Sampel divorteks hingga campuran merata. Selanjutnya dipanaskan dalam *waterbath* bersuhu  $92,5^\circ\text{C}$  selama 30 menit sambil sesekali diaduk.
- 3) Kemudian sampel didinginkan dalam air es selama 1 menit. Campuran didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang, selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3600 rpm selama 15 menit.
- 4) Gel yang terbentuk diukur beratnya dan dinyatakan sebagai *swelling volume* (g/g bk). Sedangkan kelarutan diperoleh dengan cara menuangkan supernatan yang dihasilkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya dan dikeringkan pada suhu  $110^\circ\text{C}$  selama semalam.

$$\text{Daya kembang (ml/g bk)} = \frac{\text{berat pasta}}{\text{berat sampel kering}}$$

$$\text{Kelarutan (\%bk)} = \frac{\text{berat supernatan kering}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

### 1.7 Daya serap air gravimetric (Kadan et al., 2003)

1. Tabung sentrifuse diisi 2 g sampel yang ditimbang berat tabung dan sampel (a), kemudian ditambahkan 9 ml akuades dan divortek.
2. Didiamkan selama 30 menit kemudian disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit, didekantasi dan ditimbang beratnya (b).

$$\text{Daya serap air} : \frac{C-(A-B)}{(A-B)} \times 100$$

A : berat sampel kering + berat tabung sentrifuse

B : berat sampel yang telah dibasahi + berat tabung sentrifuse

Ws : berat sampel (g)

Ka : kadar air (wb)

### 1.8 Analisa *Pasting properties* tepung sorgum (Booth et al.,)

1. Ditimbang 3 g tepung sorgum (bahan baku dan hasil optimasi) dan dimasukkan kedalam *Canister*
2. Ditambahkan 25-30 ml larutan akuades
3. RVA canister dan *Plastic paddle* dipasang kedalam alat RVA dan dilakukan pengujian
4. Setting pemanasan pada suhu 95 °C selama 2,7 menit sebelum pendinginan dari 95 °C hingga 50 °C pada kecepatan 12 °C per menit dan tertahan pada suhu 50 °C selama 2 menit
5. Parameter yang akan dianalisa meliputi peak viscosity, trough viscosity, breakdown viscosity, final viscosity, setback viscosity, peak time, dan pasting temp dalam bentuk software

## Lampiran 2 Pelaksanaan Penelitian Pendahuluan

### A. Pembuatan kultur

1. Inokulum murni *L.plantarum* diinokulasikan ke MRSB
2. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam

### B. Fermentasi sorgum menggunakan *L.plantarum*

1. Sebanyak 50 g biji sorgum dicuci menggunakan air mengalir
2. Dimasukkan kedalam gelas jar 250 ml
3. Ditambahkan air steril pH 7 100 ml

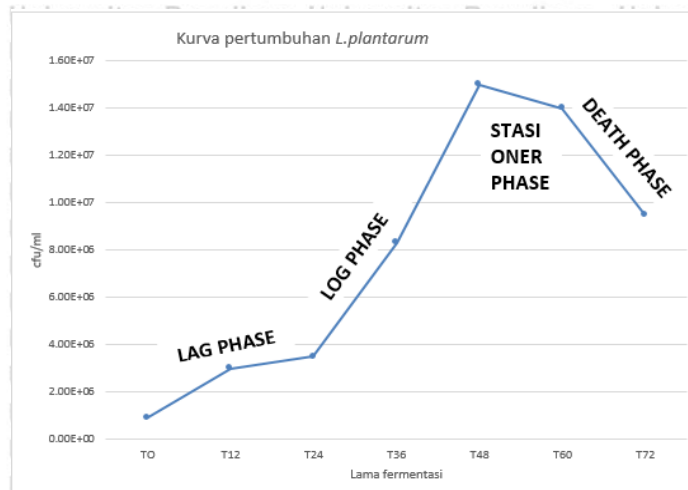


4. Difermentasi dengan konsentrasi inokulum 1-10% dengan lama fermentasi 12,24,36,48,60 dan 72 jam
5. Disaring (dipisahkan antara media fermentasi dengan sorgum hasil fermentasi)
6. Media fermentasi dilakukan analisa pH, Total asam, TPC (hanya pada lama fermentasi 72 jam)
7. Sorgum yang telah difermentasi dikeringkan pada suhu 70 °C selama 4 jam
8. Sorgum hasil fermentasi dihaluskan menggunakan blender dan selanjutnya, diayak menggunakan ayakan 80 mesh dan dilakukan analisa tanin

### C. Kurva pertumbuhan

Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* sama halnya dengan mikroorganisme lainnya yaitu, dalam suatu kultur murni akan melewati beberapa fase diantaranya fase lag atau adaptasi, fase log, fase stasioner dan fase kematian Zuzana *et al.*, (2019). Kurva pertumbuhan bakteri pada fermentasi biji sorgum diperlukan untuk mengetahui lama fermentasi untuk menghasilkan penurunan tanin dan peningkatan daya cerna protein paling optimal. Fase lag pada kurva pertumbuhan *L. plantarum* merupakan fase bakteri dalam masa penyesuaian dengan lingkungan barunya, pada fase ini pada fase ini pertumbuhan bakteri berlangsung lambat. Fase log merupakan fase bakteri suda dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya ditandai dengan pertumbuhan populasi yang meningkat, fase stasioner merupakan fase laju pertumbuhan dan fase laju kematian sama sehingga, jumlah bakteri akan sama. Fase kematian dimana jumlah sel yang mati lebih besar dibandingkan jumlah sel yang hidup (Betrand, 2019).

Kurva pertumbuhan dari bakteri *L. plantarum* dapat ditunjukkan pada Gambar 1. Kurva pertumbuhan *L. plantarum* dibawah ini.



**Gambar 1.** Kurva pertumban *L.Plantarum*

Pada **Gambar 1.** dapat diketahui bahwa *L.plantarum* melewati empat fase yaitu fase lag pada jam ke 0 hingga ke 24 dengan jumlah sel 0 hingga  $4 \times 10^6$ , pada fase ini *L.plantarum* beradaptasi dengan komposisi makro dan mikro nutrient pada biji sorgum. Fase log terjadi pada jam ke 24 hingga jam ke 48 dengan jumlah sel  $4 \times 10^6$  hingga  $1,6 \times 10^7$ , pada fase ini pertumbuhan *L.plantarum* meningkat dengan pesat karena sudah mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya. Fase stasioner terjadi pada jam ke 48 hingga jam ke 60 dengan jumlah sel  $1,6 \times 10^7$  hingga  $1,4 \times 10^7$ . Fase kematian terjadi pada jam ke 60 hingga jam ke 72 dengan jumlah sel  $1,4 \times 10^7$  hingga  $1 \times 10^7$ .

### Lampiran 3. Analisa TPC,pH, Total asam, dan Tanin

#### 3.1 pH dan Total asam

X <sub>2</sub>	Lama fermentasi (X <sub>1</sub> )					
	12	24	36	48	60	72
1	6,4 ± 0,52	6 ± 0,55	5,8 ± 0,79	5,6 ± 0,55	5,6 ± 0,52	6,4 ± 0,55
2	6,4 ± 0,72	6,4 ± 0,75	6 ± 0,94	6 ± 0,66	5,9 ± 0,79	5,9 ± 0,65
3	6,3 ± 0,6	6,3 ± 0,55	6,3 ± 0,79	6 ± 0,52	5,9 ± 0,6	5,9 ± 0,52
4	6,3 ± 0,79	6,3 ± 0,62	6 ± 0,6	5,9 ± 0,85	5,9 ± 0,79	5,9 ± 0,55
5	6,3 ± 0,6	6,3 ± 0,52	5,9 ± 0,6	5,9 ± 0,79	5,9 ± 0,52	5,9 ± 0,79
6	6,3 ± 0,52	6,3 ± 0,62	6 ± 0,6	6 ± 0,72	5,8 ± 0,81	5,8 ± 0,43



7	6,3 ± 0,52	6,3 ± 0,79	6 ± 0,6	6 ± 0,79	5,8 ± 0,81	5,8 ± 0,43
8	6,3 ± 0,59	6,3 ± 0,64	6 ± 0,68	6 ± 0,71	5,8 ± 0,88	5,8 ± 0,45
10	6,3 ± 0,51	6,3 ± 0,65	6 ± 0,62	6 ± 0,71	5,8 ± 0,85	5,8 ± 0,48

**Tabel 1** Hasil analisa pH dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ )

Keterangan :1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

Berdasarkan **Tabel 4.2** dapat diketahui bahwa kombinasi konsentrasi inokulum dan lama fermentasi menghasilkan nilai pH diantara 6,4 hingga 5,8.

Respon pH berdasarkan faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum memiliki nilai  $p\text{ value} > 0,05$  atau yang dapat diartikan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan pH. Hal tersebut dapat dikarenakan kombinasi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum yang terlalu rapat.

**Tabel 2.** Hasil analisa total asam (TA) dengan faktor lama fermentasi ( $X_1$ ) dan konsentrasi inokulum ( $X_2$ )

$X_2$	Lama fermentasi ( $X_1$ )					
	12	24	36	48	60	72
1	0,51 ± 0,33	0,49 ± 0,04	0,33 ± 0,55	0,46 ± 0,33	0,43 ± 0,33	0,53 ± 0,55
2	0,35 ± 0,04	0,69 ± 0,11	0,49 ± 0,35	0,49 ± 0,51	0,69 ± 0,4	0,59 ± 0,4
3	0,51 ± 0,55	0,57 ± 0,25	0,61 ± 0,04	0,65 ± 0,25	0,69 ± 0,25	0,61 ± 0,25
4	0,63 ± 0,11	0,59 ± 0,55	0,68 ± 0,23	0,69 ± 0,9	0,53 ± 0,17	0,63 ± 0,14
5	0,64 ± 0,25	0,64 ± 0,55	0,72 ± 0,33	0,78 ± 0,55	0,74 ± 0,04	0,74 ± 0,55
6	0,78 ± 0,18	0,79 ± 0,17	0,98 ± 0,32	0,85 ± 0,13	0,75 ± 0,20	0,8 ± 0,43
7	0,78 ± 0,33	0,84 ± 0,55	0,77 ± 0,33	0,97 ± 0,25	0,87 ± 0,55	0,87 ± 0,04
8	0,95 ± 0,55	0,9 ± 0,75	0,93 ± 0,64	0,85 ± 0,13	0,85 ± 0,22	0,95 ± 0,25
10	0,98 ± 0,57	0,89 ± 0,65	1,05 ± 0,31	1,18 ± 0,13	1,08 ± 0,33	0,88 ± 0,8

Keterangan :1) Data ( $\pm$  standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

Berdasarkan **Tabel 2** dapat diketahui bahwa kombinasi konsentrasi inokulum dan lama fermentasi menghasilkan nilai TA diantara 0,33 hingga 1,18.

Respon pH berdasarkan faktor lama fermentasi dan konsentrasi inokulum memiliki nilai  $p\text{ value} > 0,05$  atau yang dapat diartikan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan pH. Hal tersebut dapat dikarenakan kombinasi antara lama fermentasi dan konsentrasi inokulum yang terlalu rapat. Fermentasi dengan menggunakan inokulum murni dari *L. plantarum* yang dapat memproduksi asam laktat selama proses fermentasi.

Akumulasi dari asam laktat mampu menurunkan pH dan meningkatkan total asam pada fermentasi sorgum (Adebo *et al.*, 2018b). Berdasarkan penelitian dari



(Pranoto *et al.*,2013) bahwa fermentasi tepung sorgum putih menggunakan *L.plantarum* selama 36 jam dengan konsentrasi inokulum 1% mampu menurunkan pH dari 5,80 menjadi 3,34 dan meningkatkan total asam dari 1% menjadi 1,4%. Perbedaan antara hasil analisa dan literatur dapat dikarenakan kondisi fermentasi dan perbedaan jenis dari sorgum.

**Tabel 3. Hasil analisa asam tanin terkondensasi (mg/100g) dengan faktor lama fermentasi (X<sub>1</sub>) dan konsentrasi inokulum (X<sub>2</sub>)**

X <sub>2</sub>	Lama fermentasi (X <sub>1</sub> )					
	12	24	36	48	60	72
1					111,28 ± 0,11	109,81 ± 0,11
2	179,54 ± 0,57	171,33 ± 0,58	159,72 ± 0,88	115,26 ± 0,88	113,21 ± 0,28	111,27 ± 0,28
3	0,51 ± 0,11	0,67 ± 0,57	0,61 ± 0,58	0,65 ± 0,34	0,69 ± 0,88	0,61 ± 0,34
4	166,35 ± 0,56	153,42 ± 0,57	111,34 ± 0,87	93,96 ± 0,91	94,44 ± 2,23	91,84 ± 2,23
5	168,01 ± 0,34	151,39 ± 0,34	104,71 ± 0,57	94,4 ± 0,58	95,33 ± 0,88	89,82 ± 0,11
6	158,23 ± 0,88	143,47 ± 0,3	99,87 ± 0,2	<b>78,72 ± 0,2</b>	78,9 ± 1,05	78,42 ± 1,05
7	162,06 ± 0,11	144,91 ± 0,34	99,61 ± 0,34	79,2 ± 0,58	78,5 ± 0,88	77,51 ± 0,11
8	160,85 ± 2	153,79 ± 0,11	100,05 ± 1,08	78,93 ± 3	78,93 ± 1,05	78,17 ± 0,91
9	152,8 ± 0,58	140,91 ± 0,88	94,9 ± 0,58	65,43 ± 0,57	65,11	64,94 ± 0,88
10	158,39 ± 0,88	152,43 ± 2	105,31 ± 0,34	78,03 ± 1	78,94 ± 1,05	79,08 ± 0,58

Keterangan :1) Data (± standar deviasi) merupakan rerata 3 kali ulangan

Berdasarkan hasil analisa asam tanin terkondensasi yang disajikan pada **Tabel 4.4.** dapat diketahui bahwa nilai asam tanin tertinggi yaitu 173,73 mg/100g pada lama fermentasi 12 jam dengan konsentrasi inokulum 2% sedangkan, nilai asam tanin paling rendah terdapat pada konsentrasi inokulum 6% dengan lama fermentasi 48 jam. Hal tersebut dikarenakan jumlah sel BAL dan lama fermentasi pada konsentrasi inokulum 2% dengan lama fermentasi 12 jam tidak mencukupi untuk mendegradasi tanin secara sempurna. Berdasarkan penelitian dari (Jaiswal *et al.*, 2018) bahwa, tanin pada sorgum menyebabkan rendahnya daya cerna protein. Hal tersebut dikarenakan tanin dapat membentuk ikatan yang kompleks dengan protein. Berdasarkan penelitian dari (Pranoto *et al.*,2013) bahwa, fermentasi menggunakan *L.plantarum* mampu memecah ikatan antara protein dengan tanin sehingga daya cerna protein meningkat. Berdasarkan penelitian dari (Osawa *et al.*, 2000) bahwa, *L.plantarum* mampu menghasilkan enzim tanase. Enzim tanase merupakan katalis yang dapat memutuskan ikatan ester tanin terhidrolisis membentuk glukosa dan ester. Pada hasil penelitian pendahuluan dapat diketahui bahwa lama fermentasi dan konsentasi inokulum berpengaruh



nyata ( $pvalue < 0,05$ ) terhadap penurunan tanin pada lama fermentasi 48 jam dan 60 jam. Tujuan dari penelitian pendahuluan adalah mencari titik tengah (0) yang akan digunakan pada penelitian utama menggunakan *Respon Surface Methodology* (RSM). Pada lama fermentasi ke 48 jam dapat diketahui bahwa nilai tanin terendah pada konsentrasi inokulum 10% namun, pada konsentrasi inokulum 6,8, dan 10% memiliki notasi yang sama yaitu C. Pada penelitian utama konsentrasi inokulum 6% akan digunakan pada penelitian utama sebagai titik tengah (0) dan lama fermentasi yang akan digunakan adalah 48 jam. Titik tengah, batas atas dan batas bawah dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

#### Lampiran 4. Perhitungan RAK pada penelitian pendahuluan

X : 36, 48, 72 jam

Y : 3,6,9 %

SK	DB	JK	KT	FHIT	F5%	F1%	Notasi
kelompok	2	-1,0	-0,5	-0,65	3,63	6,22	tn
T	2	2285,97	1142,98	1505,58	3,63	6,22	**
W	2	2467,66	1233,83	1625,24	3,63	6,22	**
TW	4	404,52	101,13	133,81	3	4,77	**
Galat	16	12,14	0,75				
Total	26	5169,30	198,81				

#### Uji lanjut menggunakan DMRT 95%

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
X3Y3	195,33	a
X3Y2	197,97	a
X2Y2	236,16	b
X2Y3	236,8	b
X3Y1	283,7	c
X1Y3	284,31	c
X1Y2	287,77	d

X2Y1

296,61

e

X1Y1

313,71

f

## Lampiran 5. Perhitungan sel bakteri pada penelitian utama

**Tabel 4.** Perhitungan sel bakteri

Ulangan	Jumlah bakteri dalam setiap pengenceran		
	-3	-4	-5
1	TBUD	<u>167</u>	34
2	TBUD	<u>104</u>	55
3	TBUD	<u>158</u>	80
		<u>143</u>	80

Jumlah mikroorganisme (CFU/ml) = jumlah koloni  $\times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

**1,43 X 10<sup>6</sup> cfu/ml**

**Tabel 5** Jumlah bakteri perkonsentrasi inokulum (cfu/ml)

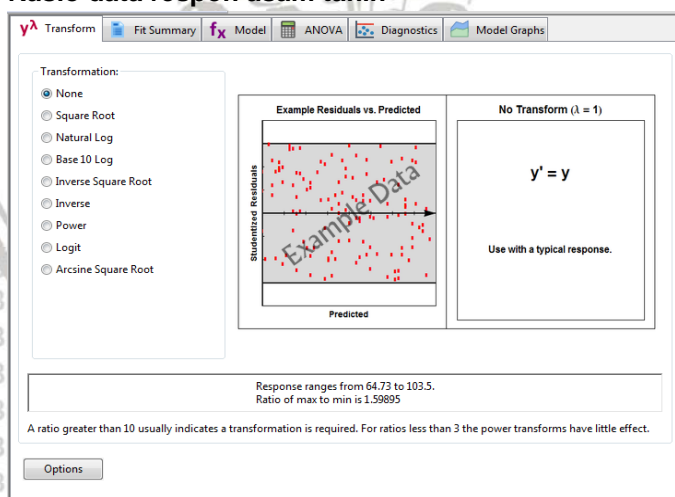
Persen konsentrasi inokulum	Berat sampel	Jumlah sel bakteri (cfu/ml)
1,75	500	1,26 X 10 <sup>7</sup> cfu/ml
3	500	2,15 X 10 <sup>7</sup> cfu/ml
6	500	4,29 X 10 <sup>7</sup> cfu/ml



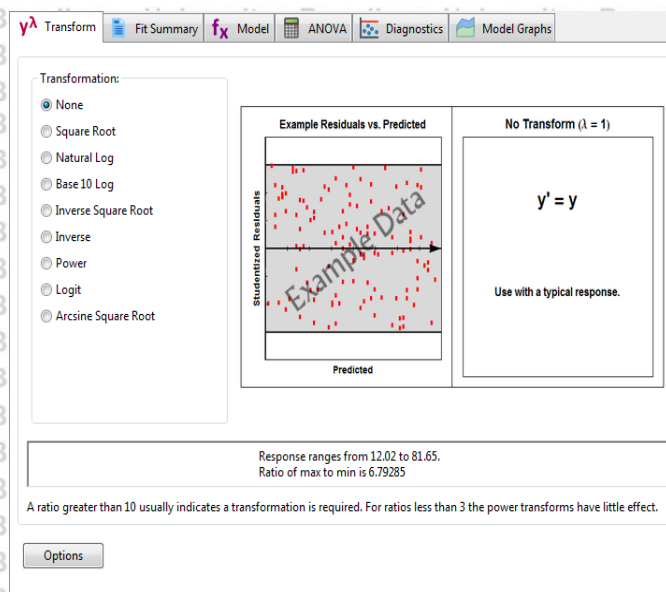
9	500	$6,43 \times 10^7$ cfu/ml
10,25	500	$7,32 \times 10^7$ cfu/ml

## Lampiran 6. Rasio data respon Asam Tanin, Asam Fitat, dan Daya cerna protein

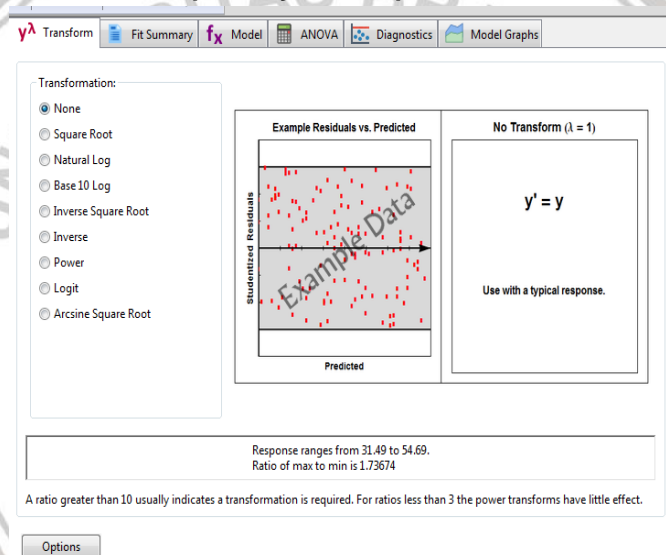
### 1. Rasio data respon asam tanin



### 2. Rasio data respon asam fitat



### 3. Rasio data respon daya cerna protein





## Lampiran 7. Olah data RSM

### 7.1 Data hasil analisa

Std	Run	Factor 1 A:Lama ferment... jam	Factor 2 B:Konstrasi ino... %	Response 1 tanin mg/100g	Response 2 fitat mg/100g	Response 3 daya cerna prot... %
8	1	48	10.2426	64.73	70.76	54.05
13	2	48	6	68.49	35.93	53.38
5	3	31.0294	6	101.51	43.16	39.86
7	4	48	1.75736	102.97	40.65	31.49
10	5	48	6	73.78	35.4	53.38
9	6	48	6	75.07	27.16	51.02
1	7	36	3	97.09	54.22	42.18
4	8	60	9	65.27	27.16	54.69
11	9	48	6	71.26	36.51	50.83
3	10	36	9	97.2	49.31	45.71
6	11	64.9706	6	70.92	28.83	52.07
2	12	60	3	103.5	81.65	36.32
12	13	48	6	76.47	12.02	47.65

### 7.2 tanin

Warning: The Cubic model is aliased. ?

#### Fit Summary

\*\*Response 1: tanin \*\*

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	
Linear	0.0142	0.0061	0.4877	0.2224	
2FI	0.0822	0.0091	0.6006	0.1161	
<b>Quadratic</b>	<b>0.0039</b>	<b>0.0893</b>	<b>0.8947</b>	<b>0.6408</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	0.2769	0.0630	0.9118	-0.4793	Aliased

#### Sequential Model Sum of Squares [Type I]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Mean vs Total	87783.03	1	87783.03			
Linear vs Mean	1653.94	2	826.97	6.71	0.0142	
2FI vs Linear	367.49	1	367.49	3.83	0.0822	
<b>Quadratic vs 2FI</b>	<b>687.30</b>	<b>2</b>	<b>343.65</b>	<b>13.58</b>	<b>0.0039</b>	<b>Suggested</b>
Cubic vs Quadratic	71.18	2	35.59	1.68	0.2769	Aliased
Residual	106.02	5	21.20			
Total	90668.97	13	6974.54			

Select the highest order polynomial where the additional terms are significant and the model is not aliased.

Berdasarkan tabel *Fit Summary* pada respon tanin model *quadratic* merupakan model yang disarankan, hal tersebut didasari pada nilai tertinggi derajat polynomial. Berdasarkan nilai dari *adjusted R<sup>2</sup>* model *quadratic* memiliki nilai paling tinggi

dibandingkan nilai model lainnya yaitu 0,8947 atau 89% yang mengandung pengertian bahwa model kuadratik mampu menjelaskan keragaman yang terkandung dalam data sebesar 89% sedangkan sisanya atau 11% lainnya adalah error dan faktor lain yang tidak diteliti, sedangkan nilai *predicted R<sup>2</sup>* adalah 0,6408 atau 64% yang artinya model kuadratik mampu menjelaskan keragaman yang terkandung dalam data sebesar 64 % sedangkan sisanya atau 36 % lainnya adalah error dan faktor lain yang tidak diteliti.

Pemilihan model berdasarkan table *Sequential Model Sum of Squares* dapat diketahui bahwa model kuadratik vs 2F1 merupakan model yang disarankan, hal tersebut dikarenakan beberapa faktor diantaranya yaitu, nilai pengujian *sequential model sum of squares* memiliki p value paling rendah yaitu 0,0039 Nilai *p-value* kurang dari 0,05 memiliki arti bahwa model kuadratik berpengaruh signifikan terhadap respon tanin.

#### Model Summary Statistics

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
Linear	11.10	0.5731	0.4877	0.2224	2244.12	
2FI	9.80	0.7004	0.6006	0.1161	2550.93	
<b>Quadratic</b>	<b>5.03</b>	<b>0.9386</b>	<b>0.8947</b>	<b>0.6408</b>	<b>1036.51</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	4.60	0.9633	0.9118	-0.4793	4269.25	Aliased

Focus on the model maximizing the **Adjusted R<sup>2</sup>** and the **Predicted R<sup>2</sup>**.

*PRESS* (Prediction Error Sum of Squares) merupakan nilai yang menunjukkan prediksi kesalahan suatu model. Pada *model summary statistics* dapat diketahui bahwa model quadratic memiliki nilai *PRESS* yang paling kecil atau “*suggested*” dibandingkan dengan model lainnya yang artinya, model *quadratic* memberikan hubungan yang lebih kuat antara variabel bebas dengan variabel terikat, serta memberikan tingkat kesalahan data yang semakin kecil. (Kumari *et al.*, 2008). Sedangkan pada model cubic memiliki nilai *PRESS* paling besar yaitu 4629,25 dengan keterangan “*aliased*” yang artinya model *cubic* tidak disarankan oleh *software*

#### Lack of Fit Tests

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	1191.70	6	198.62	19.71	0.0061	
2FI	824.21	5	164.84	16.36	0.0091	
<b>Quadratic</b>	<b>136.90</b>	<b>3</b>	<b>45.63</b>	<b>4.53</b>	<b>0.0893</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	65.72	1	65.72	6.52	0.0630	Aliased
Pure Error	40.30	4	10.08			

The selected model should have insignificant lack-of-fit.



Pada tabel *lack of fit test* dapat diketahui bahwa model quadratic merupakan model yang disarankan “suggested”, hal tersebut dikarenakan p-value dari model quadratic memiliki nilai yang paling tinggi yaitu 0,0893 (p-value>0,05) yang artinya *lack of fit test* pada model quadratic tidak signifikan. Menurut Shabiri *et al.* (2012) *lack of fit* harus dalam kondisi tidak signifikan, apabila dalam kondisi signifikan maka model yang digunakan tidak cocok.

## Anova

### ANOVA for Quadratic model

\*\*Response 1: tanin \*\*

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
	<b>Model</b>	2708.74	5	541.75	21.40	0.0004	significant
	A-Lama fermentasi	591.35	1	591.35	23.36	0.0019	
	B-Konsetrasi inokulum	1062.59	1	1062.59	41.98	0.0003	
	AB	367.49	1	367.49	14.52	0.0066	
	A <sup>2</sup>	448.97	1	448.97	17.74	0.0040	
	B <sup>2</sup>	326.52	1	326.52	12.90	0.0088	
	<b>Residual</b>	177.20	7	25.31			
	Lack of Fit	136.90	3	45.63	4.53	0.0893	not significant
	Pure Error	40.30	4	10.08			
	<b>Cor Total</b>	2885.94	12				

Factor coding is **Coded**.

Sum of squares is **Type III - Partial**

## 7.3 Fitat

Warning: The Cubic model is aliased. ?

### Fit Summary

Response 2: fitat

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	
Linear	0.9272	0.0570	-0.1820	-0.8812	
2FI	0.2434	0.0582	-0.1195	-1.5233	
<b>Quadratic</b>	<b>0.1169</b>	<b>0.0889</b>	<b>0.2204</b>	<b>-1.6613</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	0.0420	0.3827	0.6929	-0.7461	Aliased

### Sequential Model Sum of Squares [Type I]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Mean vs Total	22660.65	1	22660.65			
Linear vs Mean	63.43	2	31.71	0.0762	0.9272	
2FI vs Linear	614.54	1	614.54	1.56	0.2434	
<b>Quadratic vs 2FI</b>	<b>1627.08</b>	<b>2</b>	<b>813.54</b>	<b>2.96</b>	<b>0.1169</b>	<b>Suggested</b>
Cubic vs Quadratic	1381.61	2	690.81	6.38	0.0420	Aliased
Residual	540.97	5	108.19			
Total	26888.28	13	2068.33			

Select the highest order polynomial where the additional terms are significant and the model is not aliased.

Pemilihan model berdasarkan tabel fit summary respon fitat seperti diatas dapat diketahui bahwa model quadratic merupakan model yang disarankan “suggested” dengan *sequential p-value* < 0,05 sedangkan, pada model cubic tidak disarankan “aliased”

## Model Summary Statistics

	Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
	Linear	20.41	0.0150	-0.1820	-0.8812	7952.92	
	2FI	19.86	0.1604	-0.1195	-1.5233	10667.49	
	<b>Quadratic</b>	<b>16.57</b>	<b>0.5452</b>	<b>0.2204</b>	<b>-1.6613</b>	<b>11250.95</b>	<b>Suggested</b>
	Cubic	10.40	0.8720	0.6929	-0.7461	7381.87	Aliased

Focus on the model maximizing the **Adjusted R<sup>2</sup>** and the **Predicted R<sup>2</sup>**.

PRESS (Prediction Error Sum of Squares) merupakan nilai yang menunjukkan prediksi kesalahan suatu model. Pada *model summary statistics* dapat diketahui bahwa model quadratic yang disarankan "suggested" namun pada model *cubic* tidak disarankan "aliased" oleh software.

## Lack of Fit Tests

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
	Linear	3727.93	6	621.32	5.70	0.0570	
	2FI	3113.38	5	622.68	5.71	0.0582	
	<b>Quadratic</b>	<b>1486.30</b>	<b>3</b>	<b>495.43</b>	<b>4.54</b>	<b>0.0889</b>	<b>Suggested</b>
	Cubic	104.69	1	104.69	0.9599	0.3827	Aliased
	Pure Error	436.27	4	109.07			

The selected model should have insignificant lack-of-fit.

Pada tabel *lack of fit test* dapat diketahui bahwa model quadratic merupakan model yang disarankan "suggested" namun pada model *cubic* tidak disarankan "aliased" oleh software pada analisa ini.

## ANOVA



## ANOVA for Quadratic model

Response 2: fitat

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
<b>Model</b>	2305.05	5	461.01	1.68	0.2572	not significant
A-Lama fermentasi	28.07	1	28.07	0.1022	0.7585	
B-Konsetrasi inokulum	35.36	1	35.36	0.1287	0.7303	
AB	614.54	1	614.54	2.24	0.1784	
A <sup>2</sup>	181.24	1	181.24	0.6599	0.4433	
B <sup>2</sup>	1556.72	1	1556.72	5.67	0.0488	
<b>Residual</b>	1922.58	7	274.65			
Lack of Fit	1486.30	3	495.43	4.54	0.0889	not significant
Pure Error	436.27	4	109.07			
<b>Cor Total</b>	4227.63	12				

## 7.4 Daya cerna protein

Warning: The Cubic model is aliased. ?

### Fit Summary

Response 3: daya cerna protein

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	
Linear	0.0089	0.0381	0.5330	0.3048	
2FI	0.1577	0.0446	0.5894	0.2756	
<b>Quadratic</b>	<b>0.0128</b>	<b>0.2232</b>	<b>0.8481</b>	<b>0.5520</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	0.0861	0.8408	0.9202	0.9245	Aliased

### Sequential Model Sum of Squares [Type I]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Mean vs Total	28870.42	1	28870.42			
Linear vs Mean	413.82	2	206.91	7.85	0.0089	
2FI vs Linear	55.06	1	55.06	2.38	0.1577	
<b>Quadratic vs 2FI</b>	<b>148.57</b>	<b>2</b>	<b>74.28</b>	<b>8.66</b>	<b>0.0128</b>	<b>Suggested</b>
Cubic vs Quadratic	37.53	2	18.77	4.17	0.0861	Aliased
Residual	22.52	5	4.50			
Total	29547.92	13	2272.92			

Select the highest order polynomial where the additional terms are significant and the model is not aliased.

Berdasarkan tabel *Fit Summary* pada respon daya cerna protein secara in vitro model *quadratic* merupakan model yang disarankan, hal tersebut didasari pada nilai tertinggi derajat polynomial. Berdasarkan nilai dari *adjusted R<sup>2</sup>* model *quadratic* memiliki nilai paling tinggi dibandingkan nilai model lainnya yaitu 0,8481 atau 84% yang mengandung pengertian bahwa model kuadratik mampu menjelaskan keragaman yang terkandung dalam data sebesar 84% sedangkan sisanya atau 16% lainnya adalah error dan faktor lain yang tidak diteliti, sedangkan nilai *predicted R<sup>2</sup>* adalah 0,55 atau 55% yang artinya model kuadratik mampu menjelaskan keragaman yang terkandung dalam data sebesar 55% sedangkan sisanya atau 45 % lainnya adalah error dan faktor lain yang tidak diteliti.

Pemilihan model berdasarkan table *Sequential Model Sum of Squares* dapat diketahui bahwa model kuadaratik vs 2F1 merupakan model yang disarankan, hal tersebut dikarenakan beberapa faktor diantaranya yaitu, nilai pengujian *sequential model sum of*

squares memiliki p value paling rendah yaitu 0,0128 Nilai *p-value* kurang dari 0,05 memiliki arti bahwa model kuadratik berpengaruh signifikan terhadap respon daya cerna protein secara in vitro.

### Model Summary Statistics

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
Linear	5.13	0.6108	0.5330	0.3048	470.99	
2FI	4.81	0.6921	0.5894	0.2756	490.76	
<b>Quadratic</b>	<b>2.93</b>	<b>0.9114</b>	<b>0.8481</b>	<b>0.5520</b>	<b>303.49</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	2.12	0.9668	0.9202	0.9245	51.15	Aliased

Focus on the model maximizing the **Adjusted R<sup>2</sup>** and the **Predicted R<sup>2</sup>**.

Nilai *PRESS* (*Prediction Error Sum of Squares*) memiliki nilai yang paling rendah dibandingkan model lainnya yaitu 303,49. Sehingga dapat disimpulkan bahwa model kuadratik merupakan model yang memiliki angka prediksi *R square* yang paling tinggi dengan angka prediksi kesalahan yang paling rendah sehingga dapat memperoleh hasil yang paling maksimal.

### Lack of Fit Tests

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	241.41	6	40.24	7.23	0.0381	
2FI	186.35	5	37.27	6.70	0.0446	
<b>Quadratic</b>	<b>37.79</b>	<b>3</b>	<b>12.60</b>	<b>2.26</b>	<b>0.2232</b>	<b>Suggested</b>
Cubic	0.2556	1	0.2556	0.0459	0.8408	Aliased
Pure Error	22.26	4	5.57			

The selected model should have insignificant lack-of-fit.

Pada tabel *lack of fit test* dapat diketahui bahwa model quadratic merupakan model yang disarankan “suggested”, hal tersebut dikarenakan p-value

dari model quadratic memiliki nilai yang paling tinggi yaitu 0,22 ( $p\text{-value} > 0,05$ ) yang artinya *lack of fit test* pada model quadratic tidak signifikan. Menurut Shabiri *et al.* (2012) *lack of fit* harus dalam kondisi tidak signifikan, apabila dalam kondisi signifikan maka model yang digunakan tidak cocok. Sedangkan pada model cubic tidak disarankan “*aliased*” dengan nilai *p value* 0,8408



## ANOVA for Quadratic model

Response 3: daya cerna protein

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
	<b>Model</b>	617.45	5	123.49	14.40	0.0014	significant
	A-Lama fermentasi	51.96	1	51.96	6.06	0.0434	
	B-Konsetrasi inokulum	361.87	1	361.87	42.18	0.0003	
	AB	55.06	1	55.06	6.42	0.0390	
	A <sup>2</sup>	45.38	1	45.38	5.29	0.0550	
	B <sup>2</sup>	119.90	1	119.90	13.98	0.0073	
	<b>Residual</b>	60.05	7	8.58			
	Lack of Fit	37.79	3	12.60	2.26	0.2232	not significant
	Pure Error	22.26	4	5.57			
	<b>Cor Total</b>	677.50	12				

## 7.5 Verifikasi

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A:Lama fermentasi	is in range	36	60	1	1	3
B:Konsetrasi inokulum	is in range	3	9	1	1	3
tanin	minimize	64.73	103.5	1	1	3
fitat	minimize	12.02	81.65	1	1	3
daya cerna protein	maximize	31.49	54.69	1	1	3

Number	lama fermentasi	konsetrasi inokulum	tannin	fitat	daya cerna protein	Desirability	
1	55.385	7.775	0.063	0.050	55.729	0.911	Selected
2	56.700	7.875	0.062	0.050	56.019	0.911	
3	60.000	9.000	0.059	0.050	57.527	0.911	
4	55.500	8.175	0.062	0.050	56.220	0.911	
5	57.150	8.963	0.060	0.050	57.093	0.911	
6	57.147	7.316	0.064	0.050	55.102	0.911	
7	53.841	7.425	0.065	0.050	55.003	0.911	
8	59.171	8.872	0.059	0.050	57.348	0.911	
9	54.793	7.393	0.065	0.050	55.078	0.911	

## Lampiran 8. Hasil verifikasi

**Tabel 6.** Hasil verifikasi respon tanin, fitat dan daya cerna protein

UI	RS	Daya	Rata-	P	RS	Tanin	Rata-	P	RS	Fitat	Rata-	P
an	M	Cerna	rata	valu	M	(mg/1	rata	valu	M	(mg/10	rata	value
ga		Protei	(%)	e		00g/1	(mg/1	e		0g bk)	(mg/1	
n		n (%)				bk)	00g			00g		
		bk)				bk)	bk)			bk)		
1		49,35				57,0				86,75		
						3						
2	55,	51,24	51,52	0,0	63	56,6	66,3	0,2	50	70,30	68,2	0,25
	79			8		8	3	25		1		
3		53,98				55,2				47,60		
						8						

## Lampiran 9 .Hasil uji paired test respon tanin, fitat dan daya cerna protein

### Paired T-Test and CI: RSM, tanin

Paired T for RSM - tanin

	N	Mean	StDev	SE Mean
RSM	3	0.06100	0.00000	0.00000
tanin	3	0.07767	0.01060	0.00612
Difference	3	-0.01667	0.01060	0.00612

95% CI for mean difference: (-0.04300, 0.00966)

T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = -2.72 P-Value = 0.113

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Retrieving project from file: 'D:\tesis\olah data\MinitabDCP BISMILAH.MPJ'

### Paired T-Test and CI: RSM, DCP

Paired T for RSM - DCP

	N	Mean	StDev	SE Mean
RSM	3	55.73	0.00	0.00
DCP	3	51.53	2.33	1.34
Difference	3	4.20	2.33	1.34

95% CI for mean difference: (-1.58, 9.98)

T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = 3.13 P-Value = 0.089

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Retrieving project from file: 'D:\tesis\olah data\verifikasi fitat.MPJ'

### Paired T-Test and CI: RSM, Fitat

Paired T for RSM - Fitat

	N	Mean	StDev	SE Mean
RSM	3	0.0500	0.0000	0.0000
Fitat	3	0.062	0.0197	0.0113
Difference	3	-0.0182	0.0197	0.0113

95% CI for mean difference: (-0.0670, 0.0306)

T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = -1.61 P-Value = 0.250



## Lampiran 10. Hasil karakterisasi sorgum dan sorgum hasil optimasi

**Tabel 7. Hasil karakterisasi sorgum**

Parameter	Ulangan			SD±	Rata rata
	1	2	3		
Kadar air%	11,14	7,52	7,82	2	8,827
Protein %	9,69	10,42	10,25	0,38	10,12
Daya serap air	11,78	11,78	11,72	0,03	11,76
Daya kembang	7,46	7,17	7,21	0,15	7,28
Kelarutan	33,4	33,5	33,45	0,05	33,45
Tanin terkondensasi mg/100g	179,816	179,887	179,956	0,07	179,887
Fitat mg/100g	170	100	70	0,015	113
Daya cerna protein %	11,96	11,97	11,69	0,15	11,81

**Tabel 8. Hasil karakterisasi sorgum optimasi**

Parameter	Ulangan			SD±	Rata rata
	1	2	3		
Kadar air%	7,72	7,79	7,84	0,06	7,78
Protein %	7,75	7,86	7,96	0,10	7,85
Daya serap air	12,22	12,05	12,09	0,08	12,12
Daya kembang	8,99	8,86	8,86	0,18	8,82
Kelarutan	52,28	52,85	53,42	0,57	52,85
Tanin terkondensasi mg/100g	57,03	56,6	55,28	0,37	55,33
Fitat mg/100g	86,75	70,30	47,60	0,25	68,21
Daya cerna protein %	49,35	51,24	53,98	0,35	55,79

## Lampiran 11

### Lampiran. Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon kadar air

#### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sampel	1	7.66140	7.66140	1152.09	0.001
ulangan	2	0.00923	0.00462	0.69	0.590
Error	2	0.01330	0.00665		
Total	5	7.68393			

### Lampiran. Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon protein

#### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sampel	1	7.66140	7.66140	1152.09	0.001
ulangan	2	0.00923	0.00462	0.69	0.040
Error	2	0.01330	0.00665		
Total	5	7.68393			

### Lampiran. Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon daya kembang

#### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ulangan	2	0.09800	0.04900	5.31	0.159
sampel	1	3.58182	3.58182	387.96	0.003
Error	2	0.01846	0.00923		
Total	5	3.69828			

### Lampiran. Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon daya serap air



### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sampel	1	564.54	564.540	62.10	0.016
ulangan	2	117.17	58.585	6.44	0.044
Error	2	18.18	9.091		
Total	5	699.89			

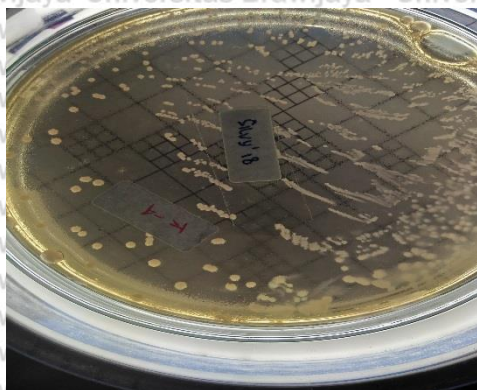
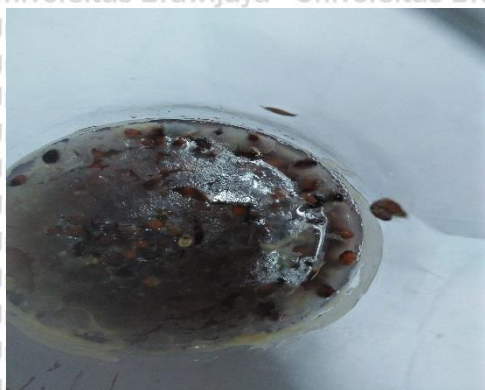
Lampiran. Hasil ANOVA karakterisasi tepung sorgum optimasi dengan respon kelarutan

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sampel	1	0.1734	0.1734	0.73	0.148
ulangan	2	0.7686	0.3843	1.62	0.032
Error	2	0.4753	0.2377		
Total	5	1.4173			



## Lampiran 12. Dokumentasi penelitian



### Fermentasi sorgum pada gelas jar Analisa TPC



### Analisa tanin

### Analisa pH





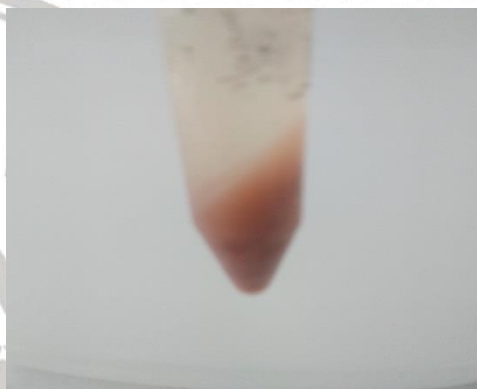
**Pengeringan sorgum fermentasi**



**Analisa kadar air**



**Analisa daya cerna protein**



**Analisa daya kembang**